

ЕМИЛИЈА АРСОВ, САША МИТРЕВ

РАСТИТЕЛНА ВИРОЛОГИЈА

ОПШТ ДЕЛ



ШТИП, 2023

Емилија Арсов, Саша Митрев

РАСТИТЕЛНА ВИРОЛОГИЈА – ОПШТ ДЕЛ

Штип, 2023 година

Емилија Арсов, Саша Митрев
РАСТИТЕЛНА ВИРОЛОГИЈА – ОПШТ ДЕЛ

Автори:

Проф. д-р Емилија Арсов

Проф. д-р Саша Митрев

РАСТИТЕЛНА ВИРОЛОГИЈА – ОПШТ ДЕЛ

Рецензенти:

проф. д-р Илија Каров

проф. д-р Душан Спасов

Лектор:

Слаѓан Спасовски

Уредник:

Лилјана Колева - Гудева

Техничко уредување:

Емилија Арсов

Издавач:

Универзитет „Гоце Делчев“ - Штип

Објавено во е-библиотека:

<https://e-lib.ugd.edu.mk>

DOI: <https://www.doi.org/10.46763/9786082770017>

CIP - Каталогизација во публикација
Национална и универзитетска библиотека "Св. Климент Охридски", Скопје

582.2:578(075.8)

АРСОВ, Емилија

Растителна вирусологија [Електронски извор] : општ дел / Емилија Арсов, Саша Митрев. - Штип : Универзитет "Гоце Делчев" - Штип, Земјоделски факултет, 2023

Начин на пристапување (URL): <http://e-lib.ugd.edu.mk/1152>. - Текст во PDF формат, содржи 149 стр., илустр. - Наслов преземен од екранот. - Опис на изворот на ден 28.09.2023. - Библиографија: стр. 143-148

ISBN 978-608-277-001-7

1. Митрев, Саша [автор]

а) Растителна вирусологија -- Високошколски учебници

COBISS.MK-ID 61726725

УНИВЕРЗИТЕТ „ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ“ – ШТИП
ЗЕМЈОДЕЛСКИ ФАКУЛТЕТ



**Емилија Арсов,
Саша Митрев**

РАСТИТЕЛНА ВИРОЛОГИЈА – ОПШТ ДЕЛ

Штип, 2023 година

ПРЕДГОВОР

Кој микроорганизам сум јас?

Не личам на живо,
но жив сум.
Не можете да ме видите
под светлосен микроскоп.
Можам да се размножувам
само во жива клетка.
Погодете кој сум.

(о л д и в)

Вирусите во последните две децении заземаат сè поважно место во систематизацијата на патогените и претставуваат важна група на микроорганизми за теоретско проучување и лабораториски истражувања.

За успешно проучување на основните карактеристики на вирусите, за потребите не само на студентите кои се специјализираат во областа на вирусологијата, но и за сите оние кои прават лабораториски истражувања, како и за производителите на различни земјоделски култури, се наметна потребата од ова издание за растителните вируси.

Основната содржина на книгава се состои од проучување на: општи карактеристики на вирусите, однос помеѓу вирусите и растенијата домаќини, епидемиологија и мерки и начини на уништување на вирусите.

Учебникот **Растителна вирусологија – општ дел**, како наставно градиво пред сè е наменето за студентите од првиот циклус на студии на Земјоделскиот факултет - на студиската програма Фитомедицина – заштита на растенијата, како и за студентите на студиската програма Биологија, за да може покрај познавањата од Општа фитопатологија, своето знаење да го продлабочат во областа на вирусологијата (наука меѓу живо и неживо).

Во однос на јазикот и стилот на пишување, книгата може да послужи и на пошироката стручна јавност и сите оние кои имаат интерес во растително производство, со цел да се запознаат со дел од проблемите со кои може да се соочат при производството.

Авторите се надеваат дека овој учебник ќе побуди интерес кај читателите. Авторите ќе бидат благодарни за секоја критика, укажување на грешките и секое мислење и идеја за дополнување и подобрување ќе бидат позитивно прифатени.

Од авторите

СОДРЖИНА

ПОГЛАВЈЕ 1. ВОВЕД.....	12
1.1. Историјат на растителната вирусологија.....	13
1.2. Први податоци за вирусите.....	13
1.3. Почеток на истражување на растителните вируси.....	15
1.4. Значење на растителните вируси и вирусологијата како научна дисциплина ..	24
ПОГЛАВЈЕ 2. РАСТИТЕЛНИ ВИРУСИ И НИВНИТЕ ИМИЊА	28
2.1. Номенклатура на растителните вируси.....	28
2.2. Некои вируси и вирусни групи.....	30
2.3. Како да ги напишете имињата на видовите на вирусите?.....	33
ПОГЛАВЈЕ 3. МОРФОЛОШКИ ОСОБИНИ НА ВИРУСИТЕ	36
3.1. Облик, големина и градба на растителни вируси.....	36
3.1.1. Облик и големина.....	36
3.1.2. Вироиди.....	40
3.1.3. Градба на растителните вируси.....	41
3.1.4. Градба на издолжените вируси.....	43
3.1.5. Градба на изометриските вируси.....	46
3.1.6. Градба на полиморфните вируси.....	47
ПОГЛАВЈЕ 4. ФИЗИЧКИ, БИОФИЗИЧКИ, ХЕМИСКИ И АНТИГЕНИ ОСОБИНИ НА РАСТИТЕЛНИТЕ ВИРУСИ.....	50
4.1. Физички особини.....	50
4.2. Биофизички особини на растителните вируси	51
4.3. Хемиски особини на вирусите	52
4.4. Антигени особини на вирусите	56
ПОГЛАВЈЕ 5. РАЗМНОЖУВАЊЕ НА ВИРУСИТЕ.....	70
5.1. Општи особини за размножување на растителните вируси	70
5.2. Механизмот на репликација на вирусите	71
5.3. Механизам на намножување кај вирусите со ДНК геном.....	72
ПОГЛАВЈЕ 6. ИНФЕКЦИЈА И ШИРЕЊЕ НА ВИРУСИТЕ ВО РАСТИТЕЛНИТЕ КЛЕТКИ ДОМАЌИНИ	76
6.1. Растенија домаќини на вирусите.....	76
6.2. Ширење на вирусите во растенијата	77
6.3. Извори на вирусни зарази	80
ПОГЛАВЈЕ 7. НАЧИНИ НА ПРЕНЕСУВАЊЕ НА ВИРУСИТЕ ВО ПРИРОДАТА	88
7.1. Како се пренесуваат растителните вируси во природата?	88
ПОГЛАВЈЕ 8. ЕФЕКТИ НА ВИРУСИТЕ ВРЗ РАСТЕНИЈАТА	98
8.1. Патологија во растителната вирусологија	98
8.1.1. Цитоплазматски промени во растителна клетка.....	98
8.1.2. Хипоплазматски промени	99
8.1.2.1. Хипоплазматски промени предизвикани од вируси.....	100
8.1.3. Хиперплазматски промени	100
8.1.4. Цитохроматски промени	101
8.1.4.1. Хроматски промени кај постојаните пигменти	102
8.1.4.2. Хроматски промени на каротеноидите	105
8.1.4.3. Хроматски промени на антоцијаните и флавоноиди.....	106
8.1.4.4. Образување темни пигменти.....	109
8.2. Пропустливост на болните растителни клетки	112
8.3. Количина и движење на водата во болните растенија	115
8.3.1. Промени во апсорпцијата на вода во растителните корени	116
8.3.2. Промени во движењето на вода во растението	117
8.4. Минерална исхрана на болните растенија	118
8.4.1. Промена во апсорпцијата на минерални материи	119
8.4.2. Промени во преносот на минерални материи	120

8.4.3. Промени во искористување на хранливите материи во клетката.....	121
8.5. Фотосинтеза на болните растенија	121
8.5.1. Фотосинтеза на растенијата	122
8.5.2. Патолошки промени во фотосинтезата	124
8.5.2.1. Општи промени во фотосинтезата	124
8.5.2.2. Посебни промени во фотосинтезата.....	125
ПОГЛАВЈЕ 9. СПРЕЧУВАЊЕ НА ШИРЕЊЕ НА ВИРУСИТЕ (АГРОТЕХНИЧКИ МЕРКИ, БИОЛОШКО СУЗБИВАЊЕ, ХЕМИСКО СУЗБИВАЊЕ И КАРАНТИНСКИ МЕРКИ)..	132
9.1. Агротехнички мерки.....	132
9.2. Биолошко сузбивање	133
9.3. Хемиско сузбивање (хемотерапија)	134
9.4. Карантински мерки.....	135
10. ОТПОРНОСТ НА РАСТЕНИЈАТА КОН ВИРУСИТЕ	138
10.1. Механизмот на одбрана кај растенијата	138
КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА	144
КОРИСНИ WEB СТРАНИЦИ	148



ПОГЛАВЈЕ 1. ВОВЕД

- 1.1. Историјат на растителната вирусологија**
- 1.2. Први податоци за вирусите**
- 1.3. Почеток на истражување на растителните вируси**
- 1.4. Значење на растителните вируси и вирусологијата како научна дисциплина**

ПОГЛАВЈЕ 1. ВОВЕД

Земјоделското сценарио како основа за социоекономски и физичкиот развој на една земја, низ целиот свет е подложно на брзи промени. Задоволувањето на основните потреби за храна и прехрана на растечката популација во светот сочинува прв приоритет во земјоделското производство – равенка на побарувачката. Има 800 милиони неухранети луѓе во светот и со сегашната стапка на пораст на населението, оваа бројка се очекува да достигне 1 милијарда и да резултира со смртни случаи од глад поради недостиг на храна.

Во моментов околу 1,3 милијарди жители живеат со помалку од 1 долар на ден. Според ФАО (Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO), цените на храната постојано растат и тој раст се бележи од 2000 година, кога бил забележан пораст за 75% на цените на храната, а (алармантно) особено бил забележан пораст на цените од 2006, па сè до последната економска криза од 2022 г. Индексот на цените на храната на ФАО (FFPI) во просек изнесувал 122,3 поени во јуни 2023 година, што е намалување за 1,7 поени (1,4 %) во однос на мај, продолжувајќи го трендот на намалување - во просек за дури 37,4 поени (23,4 %) под врвот што го достигна во март 2022 година. Месечниот пад на индексот во јуни се одрази на падот на индексите за шеќер, растителни масла, житарки и млечни производи, додека индексот на цените на месото остана практично непроменет (податок од FAO 07/07/2023, <https://www.fao.org/worldfoodsituation/foodpricesindex/en/>).

Во 2008 година, цените кај оризот се зголемени за 74%, а пченицата за повеќе од двојно во однос на претходната година на меѓународно ниво. Како резултат на ова нагло зголемување на цените на храната се случија протести и судири во делови од Латинска Америка, Африка и Јужна Азија. Според ФАО, во 2013 година, околу 14% од 6,5 милијарди светската популација е погодена од глад. Дваесет и девет земји вклучително и Индија имаат „алармантни“ или „екстремно алармантни“ нивоа на глад. Според статистичките анализи, ваквата ситуацијата најверојатно ќе се влоши до 2050 година, бидејќи глобалното население се очекува да се зголеми за 40% (Subramanya, 2013).

Оваа загрижувачка ситуација со пренаселеност на планетата Земја не може да се намали. Од друга страна, треба да има брз земјоделски и индустриски развој, во кој интензивното земјоделство ќе одигра главна улога. Проширување на обработливото земјиште може, до одреден степен, да го зголеми земјоделското производство, но високоприносните сорти и хибриди заедно со напредните технологии за земјоделско производство ќе играат главна улога.

Огромното зголемување на населението во последните години, претставува причина плус за човекот да размислува за зголемување на земјоделството производство. Покрај процесот на глобално затоплување (глобални климатски промени кои резултираат со зголемување на температурите како резултат на присуство на стакленички гасови во атмосферата), големо значење во едно земјоделско производство имаат и болестите и штетниците, чија појава се зголемува како резултат на промената на климатските услови.

Од аспект на здравје на растенијата и одгледување на култури во отсуство на болести и штетници, особено треба да се споменат промените кај растенијата предизвикани од присуството на вирусите и виroidите, нивното потекло, нивната морфологија, нивното размножување, одржување и пренесување во природата, како и мерките за заштита кои можат да се применуваат за нивно сузбивање. Сите овие карактеристики, од самите почетоци до современите научни достигнувања се опишани во овој учебник, со цел да се добие една слика за малите невидливи причинители на штети кои се од особено значење за едно современо земјоделско производство, и производство на безвирусен семенски и саден материјал.

1.1. Историјат на растителната вирусологија

Вирусите претставуваат посебна група на патогени кои се јавуваат како во растителниот свет, така и во животинскиот свет. Според природата на домаќинот вирусите се делат на растителни (фитопатогени) и животински (зоопатогени) вируси. Науката која ги проучува растителните вируси е позната како **растителна вирусологија**, а науката која ги проучува вирусите кај животните и човекот е позната како **анимална вирусологија**.

1.2. Први податоци за вирусите

Зборот „*вирусологија*“ значи „*проучување на вирусите*“. Растителна вирусологија е наука за проучување на вирусите кои ги инфицираат растенијата. Ефектите, т.е. симптомите кои настануваат како резултат на вирусите се многу на број и се јавуваат кај поголем број на растителни видови, вклучувајќи и многу видови кои се економски значајни. Инфицираните растенија може да бидат недоразвиени во споредба со безвирусните растенија, тие растат абнормално и нивната пигментација на листовите може да биде мозаична со светли и темно зелени делови.

Потеклото на вирусите е непознато и не постои причина да веруваме дека она што постои денес настанало неодамна.

Научните докажувања за растителните болести предизвикани од вируси, не започнале порано од доцниот 19 век. Меѓутоа, многу порано имало пишувано поеми и сликано уметнички дела за овие патогени причинители. Така, една поема која ги опишува вирусните болести била напишана од Empress Koken во 752 г., а потоа преведена од T. Inouye (Hull, 2014):

*Во селото,
Изгледа, како постојано да има мраз,
За растенијата кои ги видов,
На полињата во лето,
Бојата на листовите беше жолта.*

Првиот зачуван податок за постоење на болести предизвикани од растителните вируси се однесува на шаренило кај лалињата кое било опишано од Carolus Clusius во далечната 1576 година. Поради привлечниот изглед, линиското шаренило кај лалињата, особено на почетокот на XVII век, бил омилен предмет за холандските сликари, кои трајно го забележале во своите уметнички дела (слика 1). Цветовите кај лалето кои имале шаренило биле многу привлечни за љубителите на цвеќе, многу повеќе отколку здравите еднобојни лалиња. Поради оваа појава на шаренило кај лалињата, холандските цвеќари почнале да се занимаваат со произведување на лалиња преку калемење на заболени со здрави растенија. Blagrave во 1675 год. ја опишал деталната постапка на калемење кај лалињата со половина луковица (Gibbs & Harrison, 1976).

За природата на шаренилото кај лалињата многу долго време не се знаело ништо и оваа појава била објаснувана на различни начини. Дури после 350 год. од првата појава на шаренилото кај лалињата, во 1928 год. била докажана инфективната природа на ова заболување (Gibbs & Harrison, 1976).

Инфективната хлороза кај јасминот е втората вирусна болест кај растенијата, која на овој вид цвеќе е опишана во далечната 1715 година, во еден англиски весник за зеленчук.

Во втората половина на XVIII век се појавиле први известувања за дегенерацијата кај компирот, која предизвикувала големи загуби во производството на компир. Подоцна, дегенерацијата кај компирот е идентификувана како вирусно заболување и компирот како култура претставувал прва култура на која е откриено вирусно заболување. Во 1778 година, Земјоделското здружение Манчестер од Англија, распишало доделување награда за успешно објаснување на причинителот на штетите кај компирот (Gibbs & Harrison, 1976).



Слика 1. Мртва природа насликана од Ambrosius Bossshaert (1619)
Лалињата покажуваат ленти на венечните ливчиња предизвикани од вирусот на недоразвиеност кај лалињата (Ријкс музеј, Амстердам)
(Bosschaert the Elder, Ambrosius - Still Life with Flowers in a Wan-Li vase (1619)

Малиот број податоци имале големо значење за развојот на вирусологијата, затоа што покажуваат дека вирусите се стари заболувања, забележани како во растителниот така и во животинскиот свет. Предизвикувачите на болестите во тоа време биле непознати, но и не постоеле услови за да можат да бидат проучувани. Затоа целиот тој поминат период може да се означи како **Преднаучна фаза во вирусологијата** (Пејчиновски и Митрев, 2007).

1.3. Почеток на истражување на растителните вируси

Првите истражувања на растителните вируси започнале во втората половина на XIX век. Предмет на истражувањата бил механичкиот начин на пренесување на мозаикот кај тутунот, со кој се докажувала инфективноста на заболувањето кај тутунот.

Со ова истражувања започнал **Adolf Mayer во Холандија**, во 1886 година. Неговото истражување било успешно преку пренесување на вирусот на мозаикот на тутунот со сокот од заразено растение и внесување во нерватурата на листот кај здрави растенија. Исто така, во текот на своето истражување тој забележал дека со загревање на заразениот сок доаѓа до инактивирање на инфективниот предизвикувач. Врз основа на своите истражувања, за тоа време и за сознанијата кои ги имал, Мајер сметал дека предизвикувачи на мозаикот кај тутунот се бактерии.



Слика 2. Adolf Mayer, Германец кој работел во Холандија

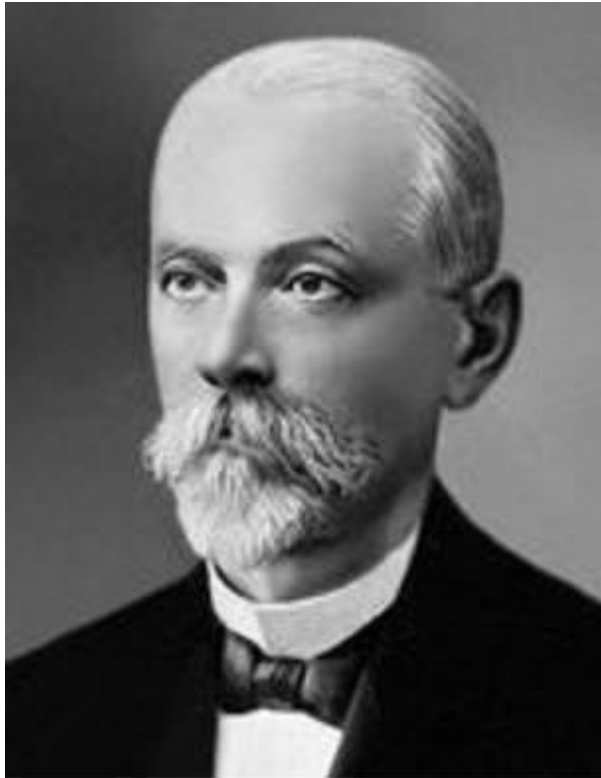
(https://en.wikipedia.org/wiki/Adolf_Mayer#/media/File:Adolf_Mayer_1875.jpg)

Adolf Mayer, имал пионерска работа со тутуновиот мозаичен вирус.

Мајер користел **оптичка микроскопија** за да открие присуство на габи или бактерии во заразениот сок, но сепак не нашол, бидејќи TMV е премногу мал за да се открие со оптички микроскоп.

Мајер, сепак заклучил дека инфективниот агенс е некој вид бактерија и погрешно тврдел дека можел да добие „чист филтрат“ од заразениот сок користејќи филтер-хартија во неколку повторувања.

После шест години од првите проучувања на Мајер, **рускиот истражувач Дмитриј Ивановски** во 1892 година, исто така ја потврдил можноста за експериментално пренесување на мозаикот на тутунот (повторување и потврда на експериментот на Мајер) (слика 3). Ивановски, исто така потврдил дека со помош на филтрирање на заразениот сок низ филтри кои биле со мали пори доволни да ги задржат бактериските клетки, издвоил сок кој ја зачувал својата инфективност. На основа на овие истражувања и дотогашните сознанија, Ивановски заклучил дека предизвикувачите на мозаикот кај тутунот се токсини на бактерија кои се присутни во филтрираниот сок (слика 4).



DMITRI IVANOVSKI
(1864-1920)

Слика 3. Дмитриј Јосифович - Ивановски

(руски: *Дми́триј Ио́сифович Ива́новский*; 28 октомври 1864 - 20 јуни 1920)
бил руски микробиолог, откривач на вируси (1892) и еден од основачите
на вирусологијата, https://en.wikipedia.org/wiki/Dmitri_Ivanovsky)



Слика 4. Лист од тутун (*Nicotiana tabacum* L.), со
симптоми предизвикани од вирус на мозаикот на
тутунот

(https://studopedia.su/12_98033_Contagium-vivum-fluidum.html)

Ивановски, студент на Андреј Сергеевич Фаринзин, студирал наука на Универзитетот во Петербург до 1888 година. Во 1890 година станал асистент во Ботаничката лабораторија на Академијата на науките во Петербург.

Тој открил дека двата инциденти на болеста биле предизвикани од екстремно ситниот инфективен агенс, способен да навлезе во порцеланските филтри Чемберленд, нешто што бактериите никогаш не можеле да го направат.

Тој ги опишал своите наоди во една статија (1892) и дисертација (1902 година).

Потоа работел на Кралскиот универзитет во Варшава и на Универзитетот Донској во Ростов на Дон.

Во своите истражувања, заклучил дека мора да биде анимиран агенс што не бил видлив во светлосниот микроскоп и дека не станува збор за отров што може да се разрежи. Тој наизменично го нарекуваше патогенот „микроб“ или „вирус“. Притоа, тој за прв пат додели патоген - вирус на **мозаик од тутун - термин вирус кој важи и денес.**

Според тоа, **Ивановски се смета за основач на модерната вирусологија.**

Помеѓу истражувачите на мозаикот на тутунот од тоа време значајно место зазема и Холанѓанецот **Martinus Willem Beijerinck** (1898), кој ги потврдил Мајеровите истражувања и слично како Ивановски потврдил дека предизвикувачот на мозаикот кај тутунот може да помине низ порцелански филтри, но исто така докажал дека може да дифундираат (навлегуваат) низ агарозен гел (слика 5). Овие експерименти го збуниле многу и затоа овие патогени кои не биле бактерии ги нарекол **заразна жива течност - *contagium vivum fluidum*** (слика 6). Затоа **Beijerinck** со право се нарекува **Татко на вирусологијата**. Тој го користел терминот **вирус кој може да се филтрира – *filterable virus*** за да ја опише способноста на патогениот агенс кој може да помине низ филтер со фини пори.



Слика 5. Martinus Willem Beijerinck (1851-1931), холандски микробиолог и ботаничар, Татко на вирусологијата (<https://www.micropia.nl/en/discover/microbiology/father-virology/>)

<https://www.britannica.com/biography/Martinus-W-Beijerinck>

Beijerinck бил награден со медалот Leeuwenhoek од Холандската кралска академија на науките во 1905 година.

Beijerinck, исто така ги разви принципите на збогатување на културата, што овозможува подобро разбирање на улогата на микроорганизмите во природните процеси.

За ова откритие тој доби меѓународно признание.

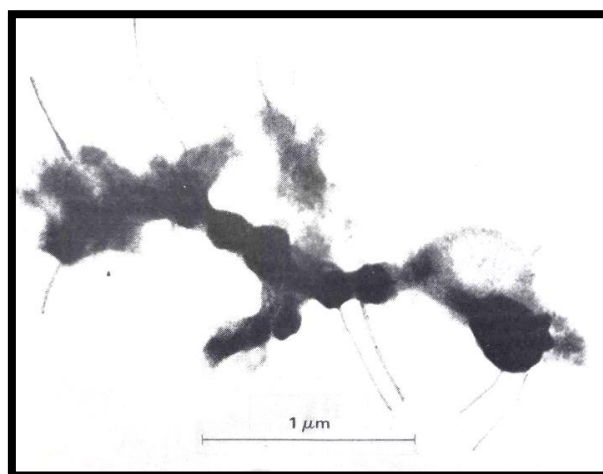
Истата 1898 година, Loeffler и Frosch, докажале дека предизвикувачкиот агенс на стапалата и устата кај говедата, може да помине низ бактериски филтер, но и други слични предизвикувачки агенси на болести кај растенијата и животните било откриено дека се предизвикани од слични агенси. Природата на т.н. ултрафилтрирачки вируси (*ultrafilterable viruses*), како што на почетокот биле наречени, била проучувана во период од добри триесетина година и скоро на почеток на 1930, започнале истражувања за растителните вируси во екстракти и овој процес на истражување научниците го нарекувале како: „проучување на црна мачка во темна визба без да бидеме сигурни дека е таму“ („**a black cat in a dark cellar without being certain that it is there**“) (Gibbs & Harrison, 1976).



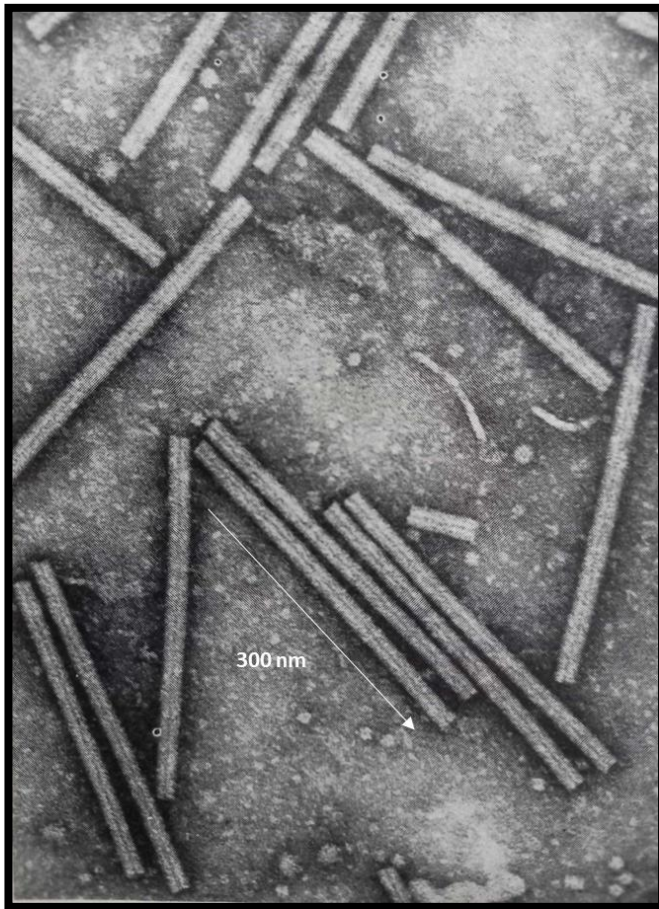
Слика 6. Следење на симптоматологијата кај тутунот (*Nicotiana tabacum* L.) предивикана од **заразна жива течност - *contagium vivum fluidum*** (<https://www.tudelft.nl/en/antoni-van-leeuwenhoekjaar/background/martinus-willem-beijerinck/the-professor/viruses>)

Индиректна евиденција дека честичките на TMV се долги, тенки прачки, почнала да се докажува со студиите после 1930 г. - редоследно биле: студии на оптичко двојно прекршување (Takahashi & Rawlins, 1932), седиментација и вискозитет (Lauffer, 1938), дифракција на X-зраците (Bernal & Frankuchen, 1937) (Gibbs & Harrison, 1976).

Во 1939 г. од Kausche, Pfankuch & Ruska, користејќи новоконструиран електронски микроскоп, била направена слика од TMV честичките (Gibbs & Harrison, 1976) (слика 7). Подоцна со развојот на електронската микроскопија, било докажано и дека честичките биле со должина од 300 nm и 16 nm во дијаметар (слика 8).



Слика 7. Рана електронска фотографија на честички од тутунов мозаичен вирус (TMV particles) направена 1939 од страна на Kausche, Pfankuch и Ruska (преземено од Gibbs & Harrison, 1976)



Слика 8. Фотографија на која за прв пат била проучена формата и должината на вирусните честички на TMV (300 nm должина) (преземено и адаптирано од Gibbs & Harrison, 1976).

Различни вирусни честички имаат различна форма, облик и големина.

Некои од нив можат да се сферични, со дијаметар од 17 до 75 nm, други кончести со 2000 x 10 nm, сè до бациловидна форма на честичките од 250 x 70 nm.

(Gibbs & Harrison, 1976)

TMV се најпроучувани вирусни честички, при што било откриено и дека 5% содржат РНК, а останатите 95% се протеини. Со некои мали исклучоци, сите други растителни вируси ги содржат овие две компоненти, а ваква содржина имаат и некои вируси кои инфицираат животинска или бактериска клетка.

Честичките на вирусот на мозаикот кај карфиолот (*Cauliflower mosaic virus*) и некои животински и бактериски вируси, содржеле ДНК молекула, истражување направено и откриено далечната 1934 г. (Gibbs & Harrison, 1976).

Според сите досегашни истражувања и проучувања на историјатот и почетоците на вирусологијата, најголем дел од пионерската работа за композицијата и градбата на вирусните честички, била направена на растителните вируси.

Од самите почетоци, па се до денешните научни достигнувања во областа на растителната вирусологија, од идејата за проучување на природата на вирусите до вистинското значење на зборот „вирус“, поминале многу години и науката претрпела доста промени. Во деведесетите години, за вирусните патогени се употребувала фразата „отровни елементи преку кои се пренесува инфекцијата“ или поедноставно „микрорпатогени“. Со напредокот на науката, се зголемувала специфичноста и се означувале како мали облигатни паразитни патогени (слика 9).

Оваа прекрасна приказна за потеклото, која може да се најде во многу учебници и историјати за растителна вирусологија, не би била целосна без да се спомене фактот дека, за да се нарече вирусот на тутунскиот мозаик зараза, не е фактички точно. Секако дека е заразен (*contagium*), а огромното мнозинство вирусологи сега ќе се согласат дека е и жив (*vivum*). **Сепак, вирусите не се течности (*fluidum*).**

Речиси во исто време, Friedrich Loeffler & Paul Frosch, работејќи на шап и лигавка, не само што покажаа дека агентот е заразен, туку и предложија неговата природа да биде честички. Тие дојдоа до овој заклучок користејќи друга новоразвиена технологија наречена филтрација со ситно зрно Китасато (fine-grain Kitasato filtration), после филтрацијата на Чемберлен (Chamberland filtration). Иако инфективноста се одржуваше по минувањето низ филтерот Чемберленд, таа беше изгубена откако помина низ помалку порозниот филтер Китасато. Така, концептот предложен од Loeffler and Frosch, за нова класа на честички инфективни агенси, бил секако поточен (Zerbini & Kitajima, 2022).

Првите децении на вирусологијата, од откривањето на ТМВ до неговото прочистување од Wendell Stanley, често се нарекуваат **„биолошка“ ера** (слика 9), бидејќи експериментите што можеле да се изведат во тоа време обезбедувале информации за биолошки својства на дадениот вирус. Овие својства ги вклучуваа домаќините што вирусот може да ги зарази и симптомите што ги предизвикал кај секој од овие домаќини (што денес се нарекува опсег на домаќинот), како и начините на кои тој природно се пренесувал (како што се инсектите – вектори или со семето за растителни вируси).

Ова може да изгледа безнадежно рудиментарно според стандардите на 21 век, но генијалноста на вирусолозите од почетокот на 20 век не е за потценување. Навистина, едноставната анализа развиена за TMV им овозможи на растителните вирусолози да утврдат, меѓу другото, дека некои растителни вируси се состојат од повеќе од една инфективна единица (две, па дури и три). Во современиот јазик, тие утврдиле дека геномите на некои растителни вируси се поделени на две или три компоненти. Едноставната анализа што го овозможи ова откритие е позната како анализа на локалната лезија. Развиена од Francis Holmes, анализата на локалната лезија се заснова на фактот дека ТМВ не е во состојба да воспостави системска инфекција кај дивниот вид (тутун) *Nicotiana glutinosa*. Дејството на она што сега е познато дека е единствен ген за отпорност, го одржува вирусот ограничен на првично инфицираните клетки, кои подлежат на програмирана клеточна смрт (исто така познат како хиперсензитивен одговор). Така, во инокулираниот лист се формира некротична локална лезија. Holmes покажа дека бројот на лезии е директно пропорционален на концентрацијата на инокулумот. Оттука, анализата на локалната лезија беше првата анализа способна да ја квантифицира количината на вирусот во домаќинот (иако индиректно), што само по себе би било извонредно достигнување (ова беше неколку години пред да се развие слична анализа на плакета за бактериофагите). Други истражувачи, сепак, применувајќи го истиот принцип на други комбинации вирус-домаќин, забележаа дека односот помеѓу разредувањето на инокулумот и бројот на локални лезии варира кај различните вируси (Zerbini & Kitajima, 2022).

Други истражувачи, сепак, применувајќи го истиот принцип на други комбинации вирус-домаќин, забележале дека односот помеѓу разредувањето на инокулумот и бројот на локални лезии варира кај различните вируси. За TMV, тоа било лезија со „една крива“, додека за вирусот на мозаик кај грашокот (CPMV) било со „две криви“ и за вирусот на мозаик од краставици (CMV) било со „три криви“. Со други зборови, бројот на локални лезии се намалува за CMV во споредба со CPMV, и за CPMV во споредба со TMV, бидејќи инокулумот бил разреден (Zerbini & Kitajima, 2022).

Бидејќи Holmes претпоставувал дека локалната лезија е формирана од инфекција на една клетка, следуваеше заклучокот дека CPMV (се состоел од две „инфективни единици“) и CMV од три, додека ТМВ има една инфективна единица - посилното намалување е последица со помала веројатност две или три инфективни единици да влезат во иста ќелија. Така, од многу едноставна, но многу елегантна анализа, бил развиен начин за одредување на бројот на геномски компоненти на

растителен вирус, кој на крајот станал таксономски критериум (историјата на анализата на локалната лезија и нејзиното влијание во растителната вирусологијата) (Zerbini & Kitajima, 2022).

Со хемиското прочистување на ТМВ во 1935 година, конечно можело да се утврди составот на вирусните честички. Иако Stanley, тој предложил дека ТМВ се состоел исклучиво од протеини, за кои извршил подетална анализа на нивните прочистени препарати и открил присуство на јаглехидрат (рибоза) и фосфор, со што заклучи дека ТМВ се состои од протеини и рибонуклеинска киселина (РНК). Речиси во исто време, развојот на преносниот електронски микроскоп конечно дозволил визуелно набљудување на честичките на вирусот, а ТМВ бил еден од првите вируси што биле „фотографирани“. Така, започна **„биохемиската ера“ на вирусологијата** (слика 9).

Од 1940 до 1970, брзиот развој на електронската микроскопија довел до сè подетални набљудувања на структурата на честичките на вирусот. Дифракцијата на X-зраци и високата резолуција / крио-електронска микроскопија довеле до нова димензија на разбирање за архитектурата на вирусните честички. Во средината на 1950, растителната вирусологија доживеала голем број големи откритија во одредувањето на структурата на вирусните честички и функцијата на нејзините компоненти (Zerbini & Kitajima, 2022).

Во периодот од 1955-1956 година, Rosalind Franklin & Donald Casparja, ја решиле структурата на ТМВ, Fraenkel-Conrat & Williams, покажале дека заразните ТМВ честички може повторно да се соберат од прочистена РНК и протеин, а Fraenkel-Conrat, Gierer & Schramm покажале дека РНК е „инфективната единица“ на ТМВ (улогата на вирусната нуклеинска киселина како инфективна единица на вируси била докажана од Hershey & Chase во 1952 година за бактериофагот T2). Друг голем развој на биохемиската ера бил претставен со напредок во серологијата, што довело до подобри дијагностички методи. Последователно, аминокиселинската секвенца на капсидниот протеин на ТМВ бил одреден во 1960 година, што го прави еден од првите протеини што се секвенционираат (и првиот вирусен протеин). Така, ТМВ продолжил и понатаму да биде во првите редови на вирусологијата (Zerbini & Kitajima, 2022).

Класификацијата имала голема корист од напредокот на биохемиската ера. Прво и најважно, морфологијата на честичките и природата на вирусната нуклеинска киселина (не само дали е ДНК или РНК, туку и дали е едноверижна или двоверижна, и во позитивна или негативна смисла во случајот со РНК), како и тоа дали геномот е монопартитен или сегментиран/повеќепартитен, брзо се појавија како главни класификациски критериуми (и двата се користат до ден-денес). До 1960-тите, целото знаење за вирусите било многу значајно, но таксономијата сè уште била неостварлива. Потребата за класификација, сепак, била признаена од повеќето вирусолози. Воспоставувањето на Интернационалниот Комитет за Номенклатура на Вирусите - International Committee on Nomenclature of Viruses, ICNV, било важно за унапредување на класификацијата на вирусите, дури и ако прифаќањето на раните одлуки на ICNV, од заедницата често беше спорно. Како и да е, најважниот аспект на класификацијата на вируси продолжи да биде дефиницијата на сет на критериуми кои точно ги одразуваат еволутивните односи меѓу вирусите (Zerbini & Kitajima, 2022).

Во текот на доцните 1970-ти, техниките за молекуларна биологија станале вообичаени, и брзо биле усвоени од вирусолошката заедница. Со нивните мали геноми, вирусите биле лесно манипулирани и не требало долго време за целосно секвенционирање на вирусните геноми. Поимпресивно, биле развиени заразни cDNA клонови на РНК вируси, првиот за полиовирусот. Во еден од ретките случаи во кои ТМВ не бил предмет на пионерска работа во вирусологијата на растенијата, првиот инфективен cDNA клон на растителен вирус бил конструиран за *Brome mosaic*

virus (BMV) во 1984 година. Инфективните клонови на ТМВ биле добиени нешто подоцна. Овие достигнувања ја развиле ерата на „**молекуларната вирусологија**“ (Ahlquist et al., 1984; Dawson et al., 1986; Meshi et al., 1986).

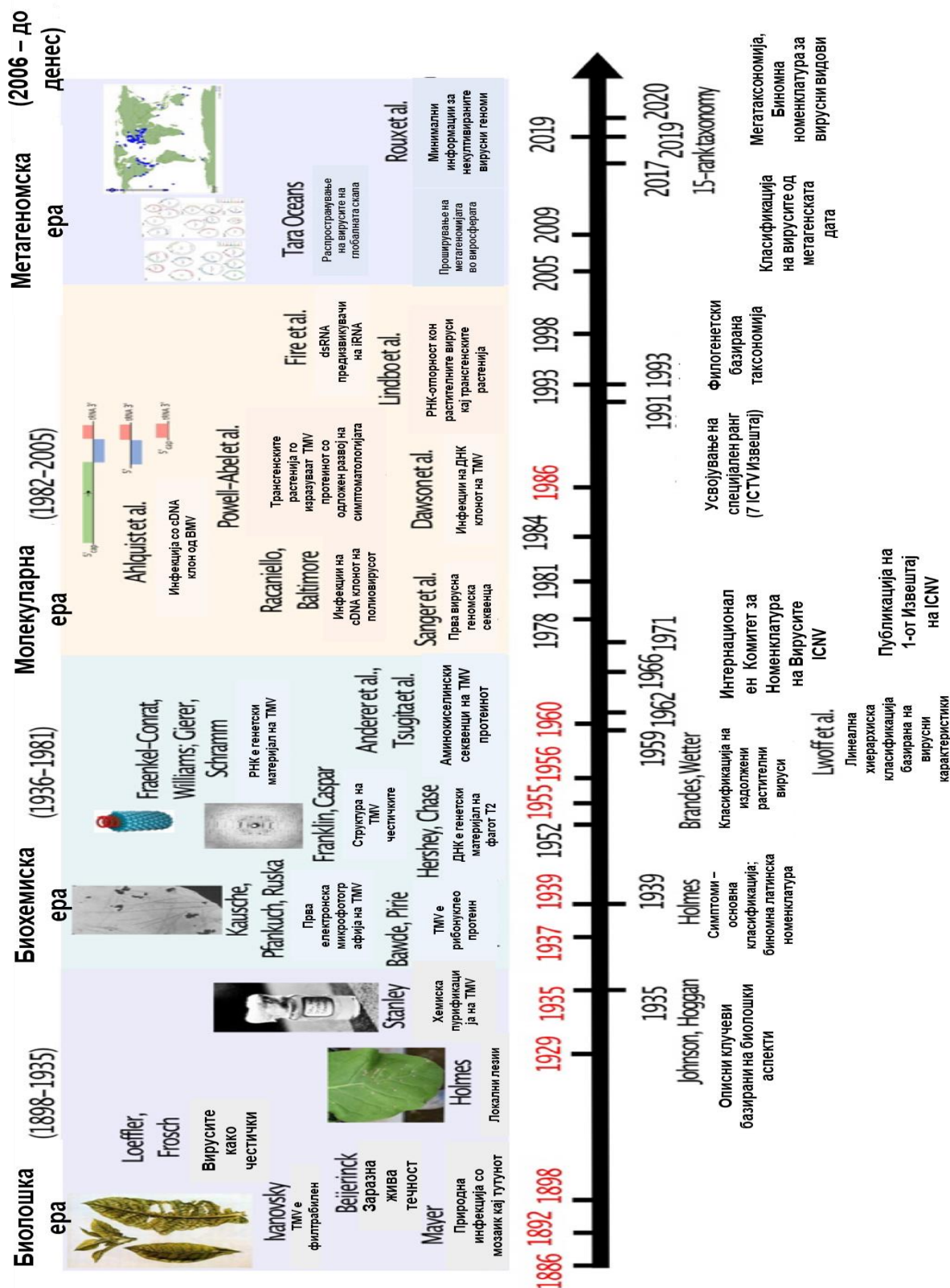
Техничките граници на секвенционирањето биле достигнати кон крајот на 20 век, овозможувајќи рутинско секвенционирање на вирусните геноми и широка примена на анализа заснована на секвенца во класификацијата на вирусите. За некои вируси, како што е ХИВ, илјадници изолати биле секвенционирани, овозможувајќи да се спроведат длабински еволутивни студии. Сепак, за повеќето вируси, само еден или неколку изолати биле секвенционирани. Некои технички аспекти на секвенционирањето, како што е барањето за олигонуклеотиден прајмер, ја ограничиле неговата употреба како алатка за откривање вируси. Во почетокот на 21 век, биле развиени нови технологии за секвенци кои овозможуваат секвенционирање на милијарди (на крајот, трилиони) нуклеотиди за неколку дена (Ansorge, 2009).

Метагеномијата, дефинирана како „**анализа на секвенца на примероци од животната средина кои содржат непозната мешавина на форми на живот, често многу што не можат да се одгледуваат во културата**“, била огромна промена за вирусологијата и класификацијата на вирусите (слика 9). Непристрасната природа на HTS технологиите за секвенца (кои не бараат молекуларно клонирање или употреба на олигонуклеотиден прајмер) ги направија идеални алатки за откривање вируси. Првичните метагеномски студии веднаш го навестиеле овој потенцијал, при што голем процент од секвенците немале сличности со секвенците во јавните бази на податоци. Оваа таканаречена „**вирусна темна материја**“ често сочинувала >50% од добиените секвенци. Како што се вршат повеќе студии (и затоа повеќе секвенци се депонираат во базите на податоци) и се развиваат подобри биоинформатички алатки, вирусната темна материја полесно се осветлува. Огромниот број на нови вируси идентификувани во метагеномските студии овозможи да се пополнат големите празнини во вирусните филогении, што значително го унапредува нашето разбирање за еволутивните односи меѓу вирусите (Zerbini & Kitajima, 2022).

Влијанието на метагеномијата во класификацијата на вирусите, не може да се прецени. Првичното прашање било: „Дали вирусите идентификувани исклучиво во метагеномските студии воопшто треба да се класифицираат“? Се разбира, анализата на секвенцата на целиот геном била инструментална за таксономијата на вирусот уште од молекуларната ера, но честопати била потребна физичка изолација за да се создаде нов вид. Сепак, физичкиот изолат често е недостапен за вирусите опишани во метагеномските студии (Zerbini & Kitajima, 2022).

До средината на 2010-тите, акумулацијата на метагеномски податоци претставувала предизвик за ICTV. Од една страна, инкорпорирањето на таквите податоци очигледно би ја подобрило способноста за заклучување на еволутивните односи, особено на повисоките рангови. Од друга страна, недостатокот на физичка изолација значело дека во многу случаи отсуствуваа основните биолошки информации (како што се домаќинот, преносот и патогеноста, т.е. исполнувањето на постулатите на Кох) (Zerbini & Kitajima, 2022).

Во 2016 година, ICTV организираше работилница „за дискусија за рамки за унапредување на класификацијата на вирусите во ерата на метагеномијата“. Билоп заклучено дека метагеномските секвенци може да се користат во таксономијата на вируси се додека тие задоволуваат голем број критериуми за контрола на квалитетот (Simmonds et al., 2017).



Слика 9. Временска рамка на вирологија (над линијата) и таксономија на вируси (под линијата) пресвртници, од откривањето на TMV до модерната ера на метагеномика. Пресвртниците кои вклучуваат TMV се означени со црвено.

(<https://www.mdpi.com/2218-273X/12/10/1363>)

(адаптирано од https://www.mdpi.com/biomolecules/biomolecules-12-01363/article_deploy/html/images/biomolecules-12-01363-g001.png)

1.4. Значење на растителните вируси и вирусологијата како научна дисциплина

Кога треба да се дефинира поимот вирус треба да се земе предвид дека не се работи само за растителни вируси, но тука се опфатени сите домаќини на вирусите, вклучувајќи ги и вертебралните и бактериите.

Вирус (од лат. *virus* – „токсин“ или „отров“) е субмикроскопска честичка изградена од една или две спирални на РНК или ДНК организирани во една макромолекула или во повеќе фрагменти, кој е неспособна да расте и да се размножува надвор од клетка домаќин. Вирусите можат да ги инфицираат сите животни форми, од животни и растенија до микроорганизми, вклучувајќи ги бактериите и археите.

Вирусите може да се дефинираат како: *сет од една или повеќе шаблонски молекули на нуклеински киселини, РНК или ДНК, спакувани во заштитна обвивка или обвивки од протеини или липопротеини, кои се способни да ја организираат својата репликација во соодветните клетки домаќини. Обично, начинот на пренесување оди по пат на хоризонтална трансимија меѓу клетките домаќини. На овој начин, вирусната репликација е (1) зависна од машинеријата за синтеза на протеини на домаќинот; (2) организирана со потребните материјали независно од бинарната фисија; (3) лоцирана на страната која не е разделена од содржината на клетката домаќин, преку континуирана липопротеинска двослојна мембрана и (4) постојано предизвикувајќи варијанти преку различни видови промени во вирусната нуклеинска киселина (Hull, 2014).*

Додека не инфицираат одредена клетка, вирусите постојат во форма на независни честички. Овие вирални честички, познати и како **ВИРИОНИ**, се состојат од два или три дела:

- (1) генетски материјал составен од ДНК или РНК;
- (2) заштитна белковинска (протеинска) обвивка наречена капсид, која го опкружува и заштитува генетскиот материјал; а во одредени случаи и
- (3) обвивка од липиди која го опкружува протеинскиот слој.

Формите на вирусните честички варираат од едноставни, спирални или икосаедрични форми, до мошне комплексни структури. Повеќето вирусни видови имаат вириони кои се премногу мали за да можат да се видат со оптички микроскоп. Просечната големина на еден вирион е околу една стотина од големината на просечната бактерија.

Денес е препознатливо дека растителните вируси многу се разликуваат од оние кои ја инфицираат животинската клетка или бактеријата. Оваа препознатливост била споделена во 1952 год., од страна на Black & Brakke кои откриле дека вирусот на туморот освен што може да се реплицира во растението домаќин, но може да се реплицира и во инсектот вектор (*Agallia consticta*) одговорен за трансмисијата од растение на растение. Главната карактеристика и разлика меѓу растителните и животинските вируси, е начинот на инфекција на клетката домаќин. Кај растителните вируси, начинот на навлегување во клетката домаќин е исклучиво преку рани на растението, затоа што клеточниот ѕид кај растенијата е непрониклив за вирусните честички и мора да се раскине за да може честичките да навлезат во растителната клетка домаќин (Gibbs & Harrison, 1976).

Растителната вирусологија е значајна од две гледни точки. Од една страна, нејзиното проучување може да спречи загуба во приносот предизвикана од вирусни болести. Ова е еден аспект на растителната патологија. Од друга страна, пренесува информации за генералните карактеристики на вирусите и нивните домаќини, за структурата и функцијата на макромолекулите и нивното биолошко значење, есенцијалните протеини и нуклеинските киселини. Ова е дел од молекуларната биологија.

Вирусите на растенијата влијаат на многу растенија и предизвикуваат широк спектар на обезбојувања и изобличувања на лисјата, ластарите, стеблата и цветовите, но ретко го убиваат растението.

Патогените растителни вируси можат да имаат значително негативно влијание врз растенијата предизвикувајќи широк спектар на симптоми, вклучувајќи обезбојување, искривување и губење на силата и приносот. Со многу малку опции за контрола, инфекцијата со вируси во градинарски растенија може да биде непријатност за градинарите.

Меѓународната експанзија во трговијата со постојано зголемување на разновидноста на растителни видови и сорти, помага да се шири се поголем број и разновидност на растителни вируси низ целиот свет. За време на растителното производство, вирусите главно се шират од растение на растение преку вегетативно размножување, иако вирусите исто така често се преместуваат на глобално ниво преку семиња. Разбирањето на разновидноста на патогените вируси поврзани со градинарските растенија е тековен предизвик за растителните патолози.

Додека растителните вируси генерално се сметаат за ентитети кои предизвикуваат болести, неодамнешната работа покажа дека многу вируси всушност играат важна и корисна улога за растенијата, особено во екстремни средини во кои тие се вклучени во давањето толеранција на суша, студени и топли температури на почвата.

Долг е списокот на „прекрасни вируси“ и многу ценети украсни растенија ја должат својата вредност, барем делумно, на вирусите што ги инфицираат. Растенијата со необично зеленило и/или цвеќиња се многу барани хортикултуристи и многу ентузијастички за украсни растенија. Избори на многу украсни растенија кои покажуваат зелени листови со други бои како бела, жолта или црвена, сами или комбинирани (општо познати како шаренило) се пропагирани и комерцијализирани како посебни сорти. Слично, оваа практика е спроведена со цвеќиња кои покажуваат пожелна естетска вредност, обично во форма на кршење цвеќе. Кршењето на цвеќето го опишува изгледот од цветовите кај кои ливчињата наместо еднообразно обоени се шарени поради неправилната распределба на пигментите. Лисјата може да покажат и обезбојување на вените кои се движат од бели до жолти (Valverde et al. 2012).

Голем број на култури, се домаќини и страдаат од вирусни инфекции кои имаат негативно влијание во производството и намалување на приносот. На пример, цитрусните овошја можат да бидат домаќини на вирус кој се пренесува со помош на лисните вошки, и според статистички податоци за период од 20 години околу 6 милиони дрвца (75% од вкупните насади) биле уништени од вирусните патогени. Друг пример за масовно уништување на насади пр., во Гана, повеќе од 100 милиони какао дрвца биле пресечени до 1945 г. со цел да се спречи раширувањето на вирусот на распукување на какао дрвјата, кои се пренесувал со брашнестите вошки. Светски раширен вирус, кој го има и кај нашите лозови насади, е вирусот на заразна дегенерација на виновата лоза кој се пренесува со помош на нематоди и по пат на вегетативно размножување на виновата лоза. Овој вирус може да предизвика загуби од 10 до 50 %, и секое растение од некои сорти на виновата лоза може да биде заболено.

Пченицата, јачменот и овесот најчесто заболуваат од вирусот на жолта спеченост кај јачменот во поголем број на земји каде има пониски температури, и процентот на инфекција варира од година во година, во зависност и од појавата и бројот на векторите (лисните вошки).

Денес се знае за поголем дел од вирусните болести кои се јавуваат кај различни култури, но поголем дел предизвикуваат проблеми за кои не може да се најде решение. Зголемување на популацијата на светско ниво, како и зголемување на потребата од храна и природни производи, ја потенцира важноста на растителните вируси и потребата истите да бидат интензивно проучувани се со цел да се најде начин за намалување на загубите кои тие ги предизвикуваат.

За да бидат идентификувани како вируси, патогените мора да бидат првенствено преносливи и да имаат способност да предизвикуваат болест на најмалку едно растение домаќин. За да се докаже присуството на одреден вирус, патогенот треба да ги исполнува Коховите постулати (Koch, 1891):

Вируси (Rivers, 1937):

- (1) Изолација на вирусите од инфицираниот домаќин;
- (2) Култивирање на вирусите во експериментални домаќини или клетки домаќини;
- (3) Докажува недостаток на поголеми патогени;
- (4) Предизвикуваат споредлива болест кај оригиналните видови домаќини или кај сродните;
- (5) Реизолација на вирусите.

Постојат големи разлики во загубите кај различните сорти, односно различни соеви на вируси кај различни култури домаќини предизвикуваат различни економски штети. Степенот на намалување на приносот кај културата домаќин, зависи од годината, локалитетот како и од:

- осетливоста на растението домаќин (сортимент);
- присуство на различни соеви на вируси;
- број вируси кои го инфицираат растението домаќин (мешана инфекција);
- присутност и активност на векторите на вирусот;
- време на зараза на растението домаќин;
- старост на растението во време на заразата;
- присутност на други патогени и други фактори (абиотски) со влијание на растението домаќин.



ПОГЛАВЈЕ 2. РАСТИТЕЛНИ ВИРУСИ И НИВНИТЕ ИМИЊА

2.1. Номенклатура на растителните вируси

Како ги добиле своите имиња?

2.2. Некои вируси и вирусни групи

2.3. Како да ги напишете имињата на видовите на вирусите?



ПОГЛАВЈЕ 2. РАСТИТЕЛНИ ВИРУСИ И НИВНИТЕ ИМИЊА

2.1. Номенклатура на растителните вируси

Како ги добиле своите имиња?

Поголем број од растителните вируси за почеток се препознаваат преку симптомите кои ги предизвикуваат кај растенијата, и затоа и своите имиња ги добиваат според симптоматологијата. На пример, најчесто вирусните промени се манифестираат како мозаик од светло и темно зелени површини по листовите на тутунските растенија и се нарекува тутунов мозаичен вирус.

Во периодот од 1930 до 1960 год., различни класификациони системи за растителните и другите вируси, биле предмет на научните дискусии.

Сепак, почетокот на именувањето на вирусите, особено за вирусите што го инфицирале компирот како култура, покажале дека неколку вируси можат да ги заразат истите растителни видови, па затоа во 1927 година, James Johnson, предложил дека растителни вируси едноставно треба да се именуваат по домаќинот кај кој тие прво биле пронајдени со додавање на различни броеви. Така, првиот вирус добиен од тутун станал тутунски вирус 1, вториот, тутунски вирус 2 и така натаму. Во прегледниот труд на Rasool et al., дадени се историски податоци за именувањето на вирусите: така Smith во 1937 година предложил овие имиња да бидат поприфатливи на меѓународно ниво со користење на латинското генеричко име на домаќинот (на пример, *Nicotiana* вирус 1), и конечно Holmes (1939) и McKinney (1944) предложиле латински биноми на Линеански стил (на пр., *Marmor tabaci*) врзани за класификациите базирани на природни вектори на вирусите, како и за видовите на симптоми што ги предизвикуваат вирусите. Меѓутоа, поради различни причини овие и други шеми за осмислување имиња не биле широко прифатени, а во денешно време повеќето вирусолози сè уште претпочитаат народни имиња на видот пр., „мозаичен вирус на тутун“ (Rasool et al., 2022).

Народните имиња на многу растителни вируси се долги, така што при употреба тие често се скратуваат на неколку букви, како што се TMV. Меѓутоа, овие кратенки сè уште не се стандардизирани и, за да се избегне забуна, мора да се редифинираат секогаш кога се користат; инаку AMV, на пример, подеднакво би можел да се однесува и на вирус на мозокот на луцерка, вирус од мозаик арабис, или дури и вирус на дамкавост кај кајсија.

На пример, криптограмот за вирус на мозаикот на тутунот и некои тесно поврзани вируси е R / 1: 2/5: E / E: S/0. Криптограмите може исто така да се користат со имињата на групите на вируси за да се наведат ликовите на групата, но најдобро е да се разликуваат групни криптограми на некој начин, бидејќи својствата кодирани во нив може да се определат за само еден или неколку од вирусите вклучени; во оваа книга се дадени во загради. Вирусни групи обично се именувани по најпознатиот вирус на групата (на пример, група на вирус на мозаик од тутун или TMV-група). Имињата на групите, исто така, може да се користат кога се дава целото име на вирус за кој се знае дека му припаѓа на одредена група; на пример, мозаичен вирус од мозаик, * / *: **: EE: S / *. Некои вируси и вирусни групи не се тесно поврзани со кој било друг познат вирус, додека многу други спаѓаат во добро дефинирани кластери, најголем која содржи повеќе од педесет различни вируси и вклучува компир вирус Y (Gibbs & Harrison, 1976).

Во средината на 60-те години на минатиот век, биле издвоени две класификации:

- (1) Нумеричко групна номенклатура (по англиските називи на заболувањата, а групирањето било направено според сличностите во особините);
- (2) Латинизирана двојна номенклатура и хиерархиска класификација.

Историско значење за општо прифатена класификација имал Интернационалниот конгрес по микробиологија, одржан во 1966 г. во Москва, кога всушност бил одржан и првиот состанок на Интернационалниот Комитет за Номенклатура на Вирусите (International Committee on Nomenclature of Viruses, ICNV). Нивна основна задача била да се развие единствена и универзална таксономска шема за сите вируси кои ги инфицираат животните (протозоите, без'рбетниците и 'рбетниците), растенијата (алги и виши растенија), габи, бактерии и други прокариоти (Русевски и Кузмановска, 2013).

Следната класификација на вирусите предложена и општо прифатена, била дадена од страна на Murphy et al. (1995), а критериумите биле организирани во четири основни групи:

- **својствата на вирионот** (големина и форма, тип на геном, својства на протеинска обвивка);
- **организација на геномот и репликација;**
- **антигени својства;**
- **биолошки својства** (спектар на домаќини, патогеност, трансмисија).

Според Интернационалниот Комитет за Номенклатура на Вирусите (International Committee on Nomenclature of Viruses, ICNV), креирана е табела со Клучни елементи на Меѓународниот код за Класификацијата на вируси и Номенклатурата (табела 1).

Табела 1. Клучни елементи на Меѓународниот код за Класификацијата на вируси и Номенклатурата

А. Принципи на вирусна номенклатура	
	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Да се стремиме кон стабилност ✓ За да се избегне или одбие употребата на имиња што може да предизвикаат грешка или забуна ✓ За да се избегне непотребното креирање на имиња
Б. Основи на правилата за именување на видовите	
	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Постојните имиња треба да се задржат кога е можно. (Правило 3.9) ✓ Правилата за приоритет не важат. (Правило 3.10) ✓ Не се користат имиња на лица. (Правило 3.11) ✓ Имињата треба да бидат лесни за употреба и лесни за паметење. (Правило 3.12) ✓ Имињата може да користат сигла. (Правило 3.15) ✓ Имињата не треба да доведат до заблуда. (Правило 3.18) ✓ Имињата не треба да навредуваат. (Правило 3.19) ✓ Имињата треба да имаат соодветни завршетоци за да го означуваат нивото на таксонот. (Правила 3,27, 3,30, 3,32, 3,34, 3,36)
В. Правила за правопис	
	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Се пишуваат имињата на вирусите, фамилиите, подфамилиите и родовите секогаш закосени и нивните први букви се големи. (Правило 3.39) ✓ Имињата на видовите се испечатени закосено и првата буква од првиот збор од името е напишано со голема буква. (Правило 3.40)

2.2. Некои вируси и вирусни групи

Според последниот извештај на Меѓународниот Комитет за Номенклатура на Вирусите (International Committee on Nomenclature of Viruses, ICNV), од 2000 год., растителните вируси ја добиваат следнава класификација:

Царство: VIRUSI

<https://ictv.global/report/genome>

Вируси со ДНК

Фамилија: *Caulimoviridae* (*дсДНК)

Род: *Caulimovirus* (изометриски; се пренесуваат со лисни вошки)^{*а}

Род: *Badnavirus* (бацилиформни; се пренесуваат со брашнести вошки)

Фамилија: *Geminiviridae* (есДНК)

Род: *Begomovirus* (близначни; ги пренесуваат белокрылките)

Род: *Curtovirus* (близначни; ги пренесуваат малите цикади)

Род: *Mastrevirus* (близначни; ги пренесуваат малите цикади)

Род: *Nanovirus* (изометриски; ги пренесуваат лисните вошки)

*дс – двоспирална

*а – големината и морфолошкиот облик на сферичните вируси се попромениливи, отколку на изометриските вируси.

Вируси со дсРНК

Фамилија: *Reoviridae*

Род: *Phytoreovirus* (изометриски; се пренесуваат со малите цикади)

Род: *Fujivirus* (изометриски; се пренесуваат со цикадите)

Род: *Oryzavirus* (изометриски; се пренесуваат со цикадите)

Фамилија: *Partiviridae*

Род: *Alphacryptovirus* (изометриски; се пренесуваат со поленот и семето)

Род: *Betacryptovirus* (изометриски; се пренесуваат со поленот и семето)

Род: *Variscosavirus* (стапчести; ги пренесуваат габи)^{*б}

*б – габите како вектори на вирусите се најчесто од царствата Chromista и Protozoa (псеудогаби)

Вируси со *есРНК

Фамилија: *Rhabdoviridae*

Род: *Cytorhabdovirus* (шилести, се пренесуваат со цикади, малите цикади и лисните вошки)

Род: *Nucleorhabdovirus* (шилести, се пренесуваат со цикади, малите цикади и лисните вошки)

Фамилија: *Bunyaviridae*

Род: *Tospovirus* (сверични; се пренесуваат со трипсите)^а

Род: *Tenuivirus* (кончести; се пренесуваат со цикадите)

Род: *Ophiovirus* (кончести; се пренесуваат со вегетативно размножување на растенијата)

Фамилија: *Bromoviridae*

Род: *Bromovirus* (изометриски; се пренесуваат со тврдокрылците)

Род: *Cucumovirus* (изометриски; се пренесуваат со лисните вошки)

Род: *Alfavirus* (бацилиформни; изометриски; се пренесуваат со лисните вошки)

Род: *Iarvirus* (квазиизометриски; се пренесуваат со трипси и со поленот)

Род: *Oleavirus* (квазиизометриски до бацилоформни; се пренесуваат по механички пат)

Фамилија: *Closteroviridae*
Род: *Closterovirus* (кончести; се пренесуваат со лисните вошки, брашнести вошки и белокрилки)

Род: *Crinivirus* (кончести; се пренесуваат со белокрилки)

Фамилија: *Baculoviridae*

Род: *Baculovirus*

Фамилија: *Comoviridae*

Род: *Comovirus* (изометриски; се пренесуваат со тврдокрилците)

Род: *Nepovirus* (изометриски; се пренесуваат со нематоди)

Фамилија: *Luteoviridae*

Род: *Luteovirus* (изометриски; се пренесуваат со лисните вошки)

Род: *Polerovirus* (изометриски; се пренесуваат со лисните вошки)

Род: *Enamovirus* (изометриски; се пренесуваат со лисните вошки)

Фамилија: *Potyviridae*

Род: *Potyvirus* (кончести; се пренесуваат со лисните вошки)

Род: *Rymovirus* (кончести; се пренесуваат со ериофитни пајачиња)

Род: *Bymovirus* (кончести; се пренесуваат со габи)

Род: *Macluravirus* (кончести; се пренесуваат со лисните вошки)

Род: *Ipotovirus* (кончести; се пренесуваат со белокрилката и со калемење)

Род: *Tritimovirus* (кончести; се пренесуваат со ериофитни пајачиња)

Фамилија: *Sequiviridae*

Род: *Sequivirus* (изометриски; се пренесуваат со лисните вошки)

Род: *Waikavirus* (изометриски; се пренесуваат со лисните вошки и малите цикади)

Фамилија: *Tombusviridae*

Род: *Tombusvirus* (изометриски; се пренесуваат по механички пат и со семето)

Род: *Carmovirus* (изометриски; се пренесуваат со тврдокрилците и со семето, со некои габи и со резниците)

Род: *Necrovirus* (изометриски; се пренесуваат со габи)

Род: *Machlomoravirus* (изометриски; се пренесуваат со семе и со трипси)

Род: *Dianthovirus* (изометриски; се пренесува по механички пат)

Род: *Avenavirus* (изометриски; се пренесуваат по механички пат и со габи)

Род: *Aureovirus* (изометриски; се пренесуваат по механички пат)

*ес – едноспирална

Негрупирани вируси ^{*в}:

Panicovirus (изометриски; се пренесуваат по механички пат и со заразено семе)
Tobravirus (стапчести, се пренесуваат со нематоди)
Tobamovirus (стапчести, се пренесуваат по механички пат и со заразено семе)
Hordeivirus (стапчести, се пренесуваат со полен и со семе)
Furovirus (стапчести, се пренесуваат од габи)
Potomovirus (стапчести, се пренесуваат од габи)
Recluvirus (стапчести, се пренесуваат со габи и со семе)
Venuvirus (стапчести, се пренесуваат со габи)
Marafivirus (изометриски; се пренесуваат со мали цикади)
Umbravirus (RNP комплекс ^{*г}, се пренесува со лисни вошки, во присуство на помошен вирус)
Tymovirus (изометриски; се пренесуваат со тврдокрилците)
Idaeovirus (изометриски; се пренесуваат со семе и со полен)
Ourniavirus (бацилиформни; се пренесуваат по механички пат и со семе)
Potexvirus (кончести; се пренесуваат по механички пат)
Carlavirus (кончести; се пренесуваат со лисни вошки, белокрилката и со семе)
Foveavirus (кончести; се пренесуваат со калемење)
Allxivirus (кончести; се пренесуваат со ериофидни пајачиња)
Capillovirus (кончести; се пренесуваат со семе и со калемење)
Trichovirus (кончести; се пренесуваат со семе и со калемење)
Vitivirus (кончести; се пренесуваат со калемење и со брашнести вошки, а некои и со штитести и лисни вошки)

*в – за овие вируси нема доволно податоци и не се сместени во фамилии

*г - RNP комплекс, нуклеинската киселина на вирусот е обвитката со мембрана наместо вообичаената белковинска обвивка.

Табела 2 ја покажува дистрибуцијата на типовите на геномот меѓу главните вируси класи на домаќини.

Табела 2. Класификација на родови на вируси според домаќини и генетски типови

Домаќин	Тип на геном						
	дсДНК	есДНК	ДНК	РНК	дсРНК	есРНК	
						(-)	(+)
Растенија	-	4	6	2	6	5	49
'Рбетници	25	4	2	7	7	22	19
Без'рбетници	10	3	3	-	9	10	8
Габи/Алги/Протозои	5	-	3	-	6	-	3
Прокариоти	22	6	-	-	1	-	2

* Извор: Дата база од Van Regenmortel et al. (2000).

Критериуми за класифицирање на различни видови вируси

(1) Ред

Заеднички својства помеѓу неколку фамилии вклучуваат:

- Биохемиска композиција;**
- Стратегија за репликација на вирусите;**
- Структура на честичката;**
- Генерална геномска организација.**

(2) фамилија

Заеднички својства помеѓу неколку родови вклучуваат:

- Биохемиска композиција;**
- Стратегија за репликација на вирусите;**
- Природа на вирусните честички;**
- Геномска организација.**

(3) Подфамилија

Заеднички својства помеѓу неколку родови, но се користат само за решавање на сложени хиерархиски проблеми.

(4) Род

Заеднички својства помеѓу родовите вклучуваат:

- Стратегија за репликација на вирусите;**
- Големина на геномот, организација, и број на сегменти;**
- Хомологија на секвенците (својства на хибридизацијата);**
- Трансмисија со вектори.**

(5) Видови

Заеднички својства помеѓу родовите вклучуваат:

- Преуредување на геномот;**
- Хомологија на секвенците;**
- Серолошки врски;**
- Трансмисија со вектори;**
- Опсег на домаќини;**
- Патогенеза;**
- Географска дистрибуција.**

(Hull, 2014).

2.3. Како да ги напишете имињата на видовите на вирусите?

Во формалната таксономија на вируси, имињата на редовите, семејствата, подфамилиите и родовите секогаш се пишуваат закосено (*Italic*) и првите букви од имињата се пишуваат со голема буква. На состанокот во Сан Диего, одржан во март 1998 година, на Меѓународниот комитет за таксономија на вируси (ICTV) извршниот комитет одлучил да се прошири оваа практика на имињата на видовите за јасно да се наведат дека името на видот на вирусот било одобрено како официјално, меѓународно признато име (Pringle, 1998).

Новото **правило 3.40** од Меѓународниот код за Класификација и номенклатура на вирусите било:

Имињата на видовите се пишуваат закосено (*Italic*) и првата буква од првиот збор секогаш се пишува со голема буква. Другите зборови не се пишуваат со големи букви, освен ако не се напишани сопствени именки или делови од сопствени именки (Mayo & Horzinek, 1998:1654).

Правилото се применува кога името на видот се користи за да се однесува на таксономски ентитет, т.е., апстракција што одговара на видот во класификацијата на вируси. Примери за правилен правопис и типографски стил за соодветните таксономски ентитети се *Tobacco mosaic virus*, *Poliovirus* и пр., *Murray River encephalitis virus* (во овој случај, реката е соодветна именка па затоа и првиот и вториот збор се напишани со голема буква).

Употреба на закосени букви кога се однесува на името на видот како таксономијата, јасно ќе сигнализира дека има статус на официјално признат вид. Комплетна листа на сите видови вируси кои се препознаени досега може да се најде во Седмиот извештај на Меѓународниот комитет за таксономија на вируси објавен во април 2000 година (Van Regenmortel et al., 2000).

Унифицираниот правопис на сите таксономски нивоа од ред до вид, го зајакнува на видлив начин статусот на видовите вируси како таксономски субјекти. Ова ново правило отстранува и некои минати необичности во правописот на имињата на видовите. Кога името на видот на вирусот содржи латинско име на домаќин (Latin host name), тоа значи дека вообичаено ќе се користат закосени букви и голема буква за тој дел од вирусот. Меѓутоа, кога името на домаќинот било исто, и во ботанички латински и во англиски (на пр., ирис), не било јасно каква треба да биде формата. Новиот правопис ги отстранува таквите нејаснотии.

Научните имиња во биологијата се обично латински зборови и употребата на закосени букви укажува на нивното латинско потекло. Сепак, Меѓународната заедница на вирусолози била против воведувањето на латинската биномна номенклатура за именување на вирусите (Van Regenmortel, 1989), и на овој начин се развил системот на номенклатура од Меѓународниот комитет за таксономија на вируси.

Најновото издание на класификацијата ICTV, од март 2022 година, вклучува 6 царства, 10 кралства, 17 стебла, 39 класи, 65 редови, 233 фамилии, 2606 родови и 10.434 видови. Колку и да изгледаат големи овие бројки, тие најверојатно претставуваат само мал дел од вистинската разновидност на вирусосферата. ICTV продолжува да се соочува со предизвици во однос на начинот на кој метагеномските секвенци може веродостојно да се класифицираат (Zerbini & Kitajima, 2022).



ПОГЛАВЈЕ 3. МОРФОЛОШКИ ОСОБИНИ НА ВИРУСИТЕ

3.1. Облик, големина и градба на растителни вируси

3.1.1. Облик и големина

3.1.2. Вироиди

3.1.3. Градба на растителните вируси

3.1.4. Градба на издолжените вируси

3.1.5. Градба на изометриските вируси

3.1.6. Градба на полиморфните вируси

ПОГЛАВЈЕ 3. МОРФОЛОШКИ ОСОБИНИ НА ВИРУСИТЕ

Во однос на морфолошките карактеристики, вирусите значително се разликуваат од сите групи на растителни патогени затоа што немаат клеточна градба (неклеточни – ацелуларни паразити) и поради тоа нивното тело се нарекува **честица** или **партикула**. Болестите кои ги предизвикуваат се наречени **виروзи**.

3.1. Облик, големина и градба на растителни вируси

3.1.1. Облик и големина

Вирусите се многу мали микроорганизми, многу помали од самата клетка домаќин која ја паразитираат. Вирусите се со субмикроскопска големина, која се изразува во нанометри (nm). Еден нанометар е милионити дел од милиметарот, или изразено во равенство $1 \text{ nm} = 10^6 \text{ nm}$.

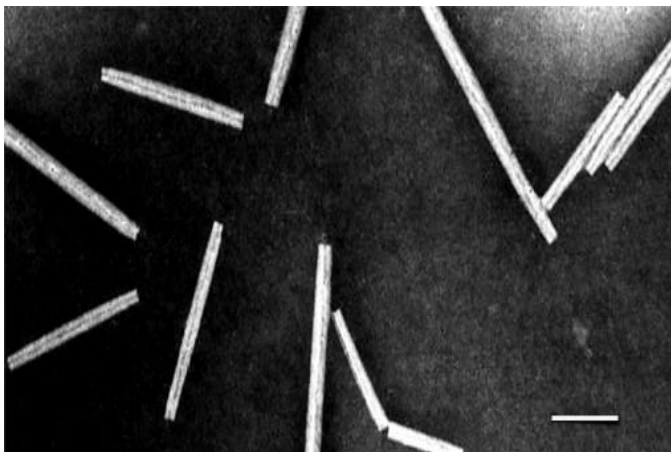
Вирусните честички најчесто имаат издолжен или изометриски облик. Големината на издолжените вируси се движи од 26 до 39 x 18 nm, па се до 2000 x 10 nm.

Издолжените вируси можат да бидат:

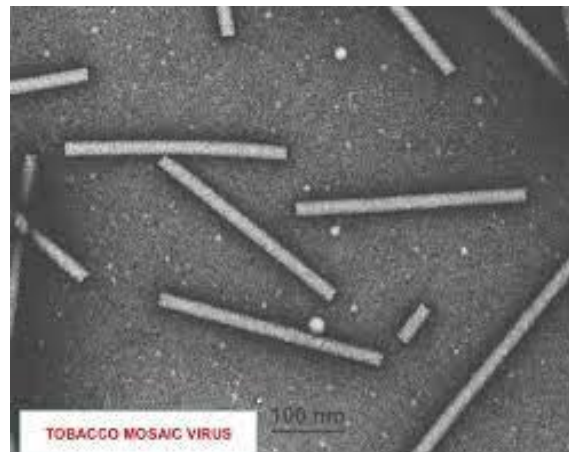
- стапчести (пр., вирус на мозаик на тутун со големина 300 x 10 nm) (краток и долг стапчест вирион) (слика 10, 11, 12);
- кончести (пр., вирусот на шарка на сливата 720 x 18 nm)
- кластери или извиткани вируси.

Издолжените вируси имаат константни димензии, поради што лесно се препознаваат и се разликуваат од на нив слични клеточни органели.

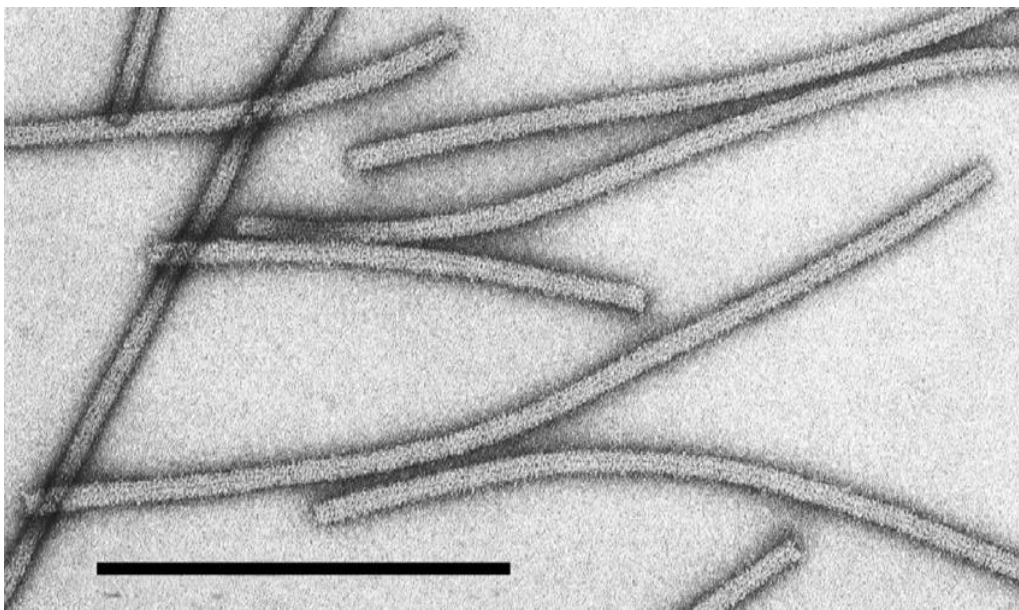
Издолжени вируси – стапчести (кратки и долги)



Слика 10. Вирус на линиски мозаик на јачменот (*Barley stripe mosaic virus*) – краток стапчест вирион (<https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/barley-stripe-mosaic-virus>)

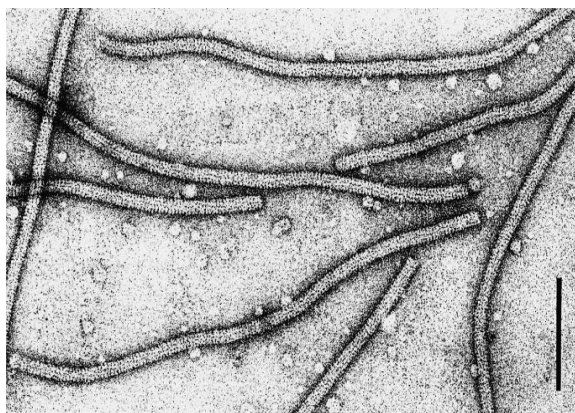


Слика 11. Вирус на мозаик на тутунот (*Tobacco mosaic virus*) – краток стапчест вирион (<https://rnkwc.ac.in/pdf/study-material/botany/cc3tt3.pdf>)

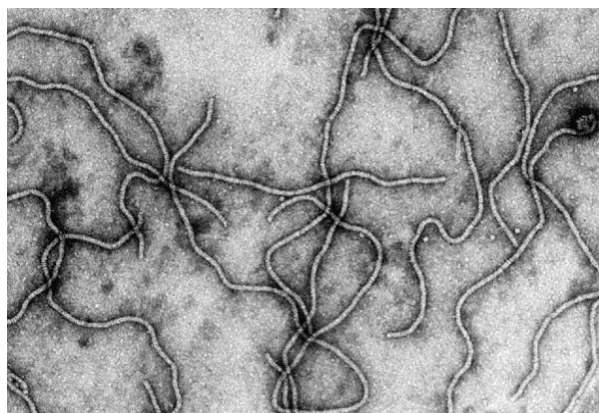


Слика 12. Латентен вирус на каранфилот (*Carnation latent virus*) – долг стапчест вирион
(интернет фотографија Courtesy R.G. Milne)
(https://www.researchgate.net/figure/Filamentous-particles-of-an-isolate-of-the-species-Carnation-latent-virus-The-bar_fig10_285699196)

Издолжени вируси – кончести (кратки и долги)

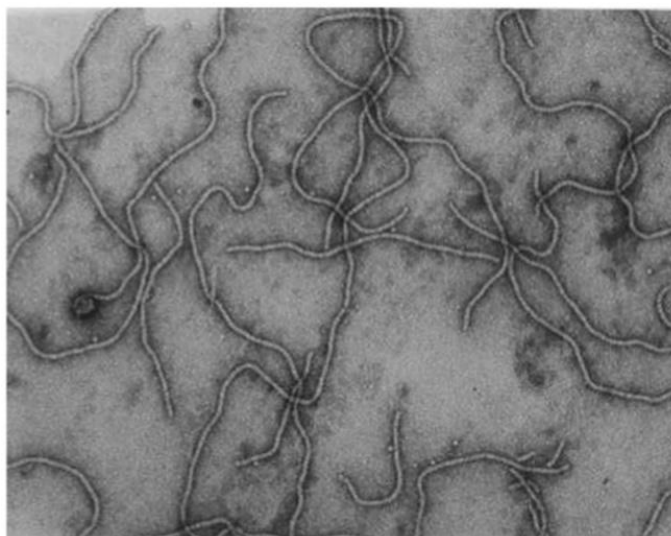


Слика 13. X вирус на компирот (*Potato virus X*) – краток кончест вирион
(интернет фотографија D.-E. Lesemann)
(<https://ictv.global/report/chapter/alphaflexiviridae/alphaflexiviridae/potexvirus>)

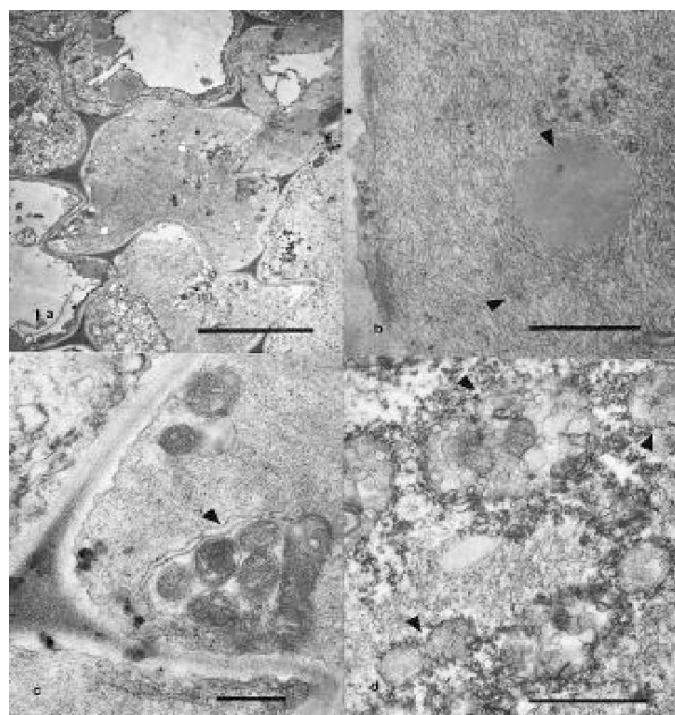


Слика 14. Вирус на жолтило на шеќерната репка (*Beet yellows virus*) – долг кончест вирион
(<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.10262>)

Издолжени вируси – кластеро или извиткани вируси



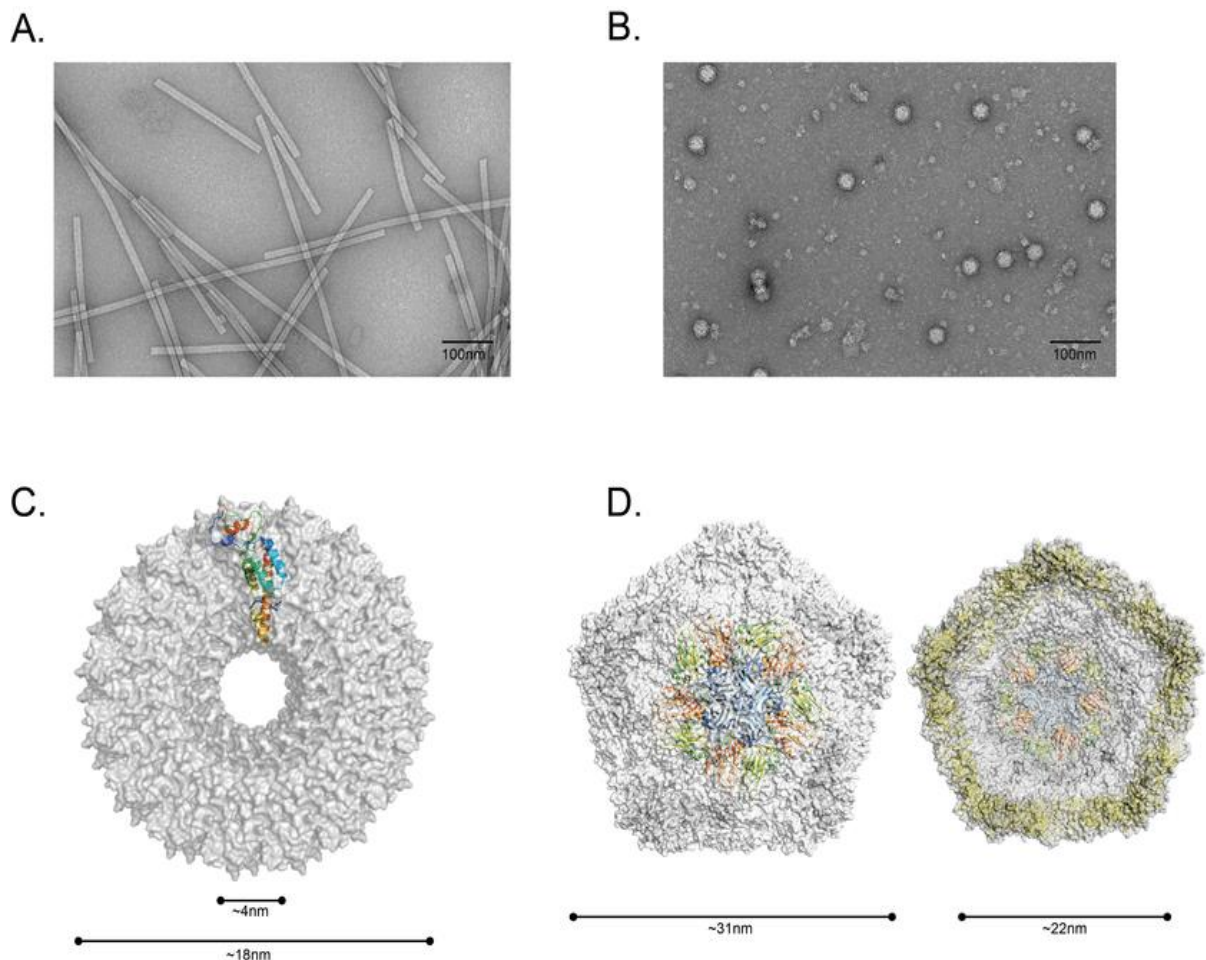
Слика 15. Вирус на свиткување на листовите кај виновата лоза (*Grapevine leafroll – associated virus 3*) - кластеро или извиткани вируси
(интернет фотографија превземена од G. G. F. Kasdorf)
(<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2013.00082/full>)



Слика 16. Електронска фотографија (ТЕМ Трансмисионен електронски микроскоп) од инфицирано ткиво од винова лоза со *Grapevine leafroll – associated virus* кластеро или извиткани вирусни честици
(https://www.researchgate.net/figure/Transmission-electron-micrographs-from-infected-grapevine-Vitis-spp-callus-tissue-A_fig1_26352947)

Изометриските вируси (според старата терминологија се наречени топчести или сферични) според својата големина се делат во две групи: вируси со пречник од 20 до 35 nm (пр., вирус на мозаик на краставицата, вирус на прстенеста дамкавост на тутунот, вирус на заразна дегенерација на лозата) како и вируси со пречник од 60 до 110 nm (пр., вирус на спеченост на оризот, вирус на бронзена некроза на домотот и др.). Најмал изолиран вирус е сателитскиот вирус со пречник од 18 nm (слика 17).

Изометриските вирусни честици со кубна градба имаат полиедарски облик. Површината на честиците е поделена на 20 еднакви делови со рамнострани триагли, при што настануваат полиедарски површини. Површината на еден триаголник е изградена од најмалку три единици, што значи една вирусна честица содржи 60 такви единици. Кога се гледаат на електронски микроскоп тие претставуваат капсомери.

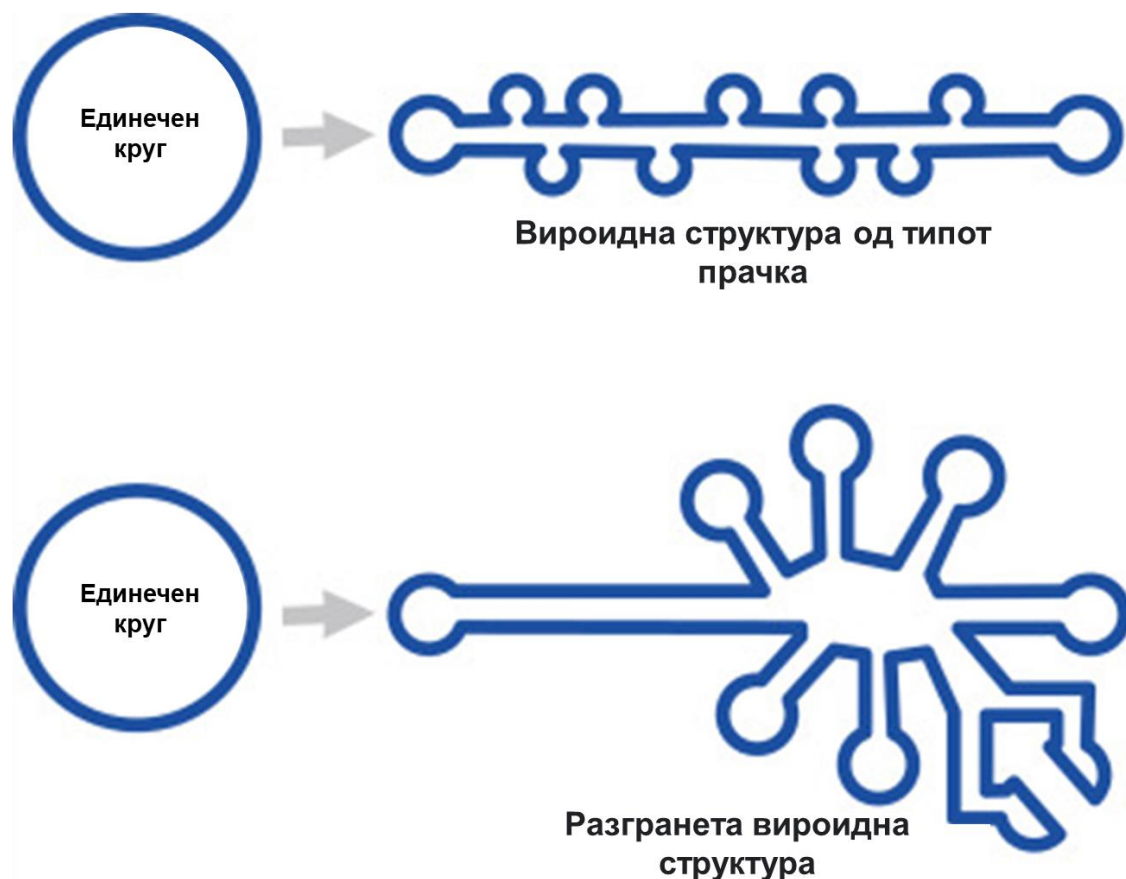


Слика 17. Структура и димензии на растителните вируси со примена на нанобиотехнологијата. **A.** TMV вирусни честици со должина ~300 nm. **B.** TEM на CPMV честици **C.** Cryo-EM структура на попречен пресек на TMV **D.** Cryo-EM структура на надворешна (лево) и внатрешна (десно) површина на CPMV (Вирус на мозаик на грав – Cowpea mosaic virus CPMV)

(https://www.researchgate.net/figure/Structure-and-dimensions-of-plant-viruses-commonly-used-in-nanobiotechnology-a_fig1_312302380)

3.1.2. Вироиди

По обликот и градбата слични на вирусите се **виroidите**. Честички слични на вирусите, патогени на растителни болести, помали и поедноставни од вирусите (слика 18). Изградени само од кратка спирала на РНК која е долга околу 50 nm и нејзината молекуларна тежина се движи помеѓу 50.000 и 120.000 далтони која е без протеински омотач (капсид). Молекулата на РНА може да биде линеарна или кружна. Таа содржи помеѓу 250 и 400 бази со висок процент на гуанин и цитозин. Тие се чувствителни на активноста на рибонуклеаза и се отпорни на органски растворувачи, зголемена температура, деоксирибонуклеази и протеини кои ги разложуваат ензимите. РНК виroidите, кои се составени од неколку стотици нуклеотиди, не можат да ја синтетизираат полимеразата, и не се забележува дека тие користат помошен вирус за репродукција. Механизмот на патогеноста на овие организми се уште не е разјаснет. Се претпоставува дека попречуваат во регулирањето на експресијата на генот домаќин. Неможноста да се изразат гените неопходни за нормално функционирање на клетката е крајниот резултат на присуството на виroidи во клетката. Сè уште е недоволно познат начинот за нивно ослободување од клетката, како и начинот на пренесување и внесување на клетката домаќин. Пр: ексориоза на цитрусите, хлоротично шаренило на хризантемите, бледило на плодовите од краставицата.



Слика 18. Вироидната РНК, формира структура слична на прачка
Вироидите се голи парчиња РНК, кои можат да се инфилтрираат само во веќе оштетена растителна клетка. Вироидот е едноверижно парче кружна РНК која има необична структура поради комплементарното спарување на базите. Некои формираат едноставна структура слична на прачка, додека други виroidи имаат сложена разгранета структура.

(адаптирано од <https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/viroid>)

3.1.3. Градба на растителните вируси

Најпростите вирусни честници се состојат од два основни дела: надворешна протеинска обвивка или капсид и внатрешен дел составен од нуклеинска киселина (НК). Кај некои вирусни честници во градбата може да учествуваат и полиамини, липиди, гликопротеини, метали и вода. Комплементарна вирусна честница со сите свои делови која е способна да направи инфекција се нарекува **вирион**.

Протеинската обвивка или капсидот кај издолжените вируси е цилиндричен, а кај изометриските вируси има полиедарска градба. Капсидот е изграден од голем број на белковински подединици кои во него се правилно распоредени. За секој вирус, белковинските единици и белковинските молекули имаат иста градба.

Вирусите со прости вирусни честници, имаат белковински подединици составени само од еден вид на полипептиди. Вирусите со сложени вирусни честници имаат белковински подединици изградени од четири типа полипептиди, по што се слични на рабдовирусите кај рбетниците.

Вирионите може да имаат спирална или кубна градба. Спирална градба имаат издолжените а кубна изометриските вируси. Во зависност дали во спиралната градба учествува една или две спирали од нуклеинска киселина, таа може да биде едноспирална или двоспирална. Нуклеинската киселина кај спиралната градба е свиткана во форма на спирала, а однадвор обвивена со цилиндрична белковинска обвивка (капсид). Молекуларната тежина на вирионите изнесува 40×10^6 Da. Нуклеинската киселина се состои од околу 6.284 нуклеотиди и има молекуларна тежина од 2×10^6 Da. Капсидот се состои од околу 2.130 субединици, изграден е од 158 аминокиселини и има молекуларна тежина од 17.530 Da. Нуклеинската киселина се наоѓа во внатрешната празнина на вирионите и се вовлекува во белковинската обвивка.

Капсидот има заштитна улога за јадрото и ја штити нуклеинската киселина од надворешни фактори. Тој е отпорен на ферментот нуклеаза и на тој начин го спречува нејзиното разградување. Со отстранување на капсидот се ослободува нуклеинската киселина и таа подлегува на дејство на ферментот нуклеаза. На површината на капсидот има многу фини пори, што овозможуваат одржување на потребните врски помеѓу внатрешноста на вирусот и клетката, како надворешна средина.

Белковините од капсидот на вирусите во хемискиот состав имаат две функционални групи, поради што се однесуваат и како бази ($-NH_4$) и како киселини ($-COOH$). Тие групи се наелектризирани, во раствор се дисоцираат и се движат кон катодата, односно кон анодата. Врз основа на оваа карактеристика се базира електрофоретската особина на вирусите. Белковинската компонента, односно капсидот, е носител на антигената способност на вирусите. Таа се синтетизира во растителната клетка, како и другите клеточни белковини.

Изометриските вирусни честници со кубна градба, имаат полиедарски облик. Површината на честниците е поделена на 20 еднакви делови со рамнострани три агли, при што настануваат полиедарски површини. Површината на еден триаголник е изградена од најмалку три единици, што значи дека една вирусна честница содржи 60 такви единици. На електронски микроскоп, таквите единици претставуваат **капсомери**.

Вирусите по својата градба се многу едноставни, и капсидот и нуклеинската киселина се состојат од еднакви (униформни) делови.

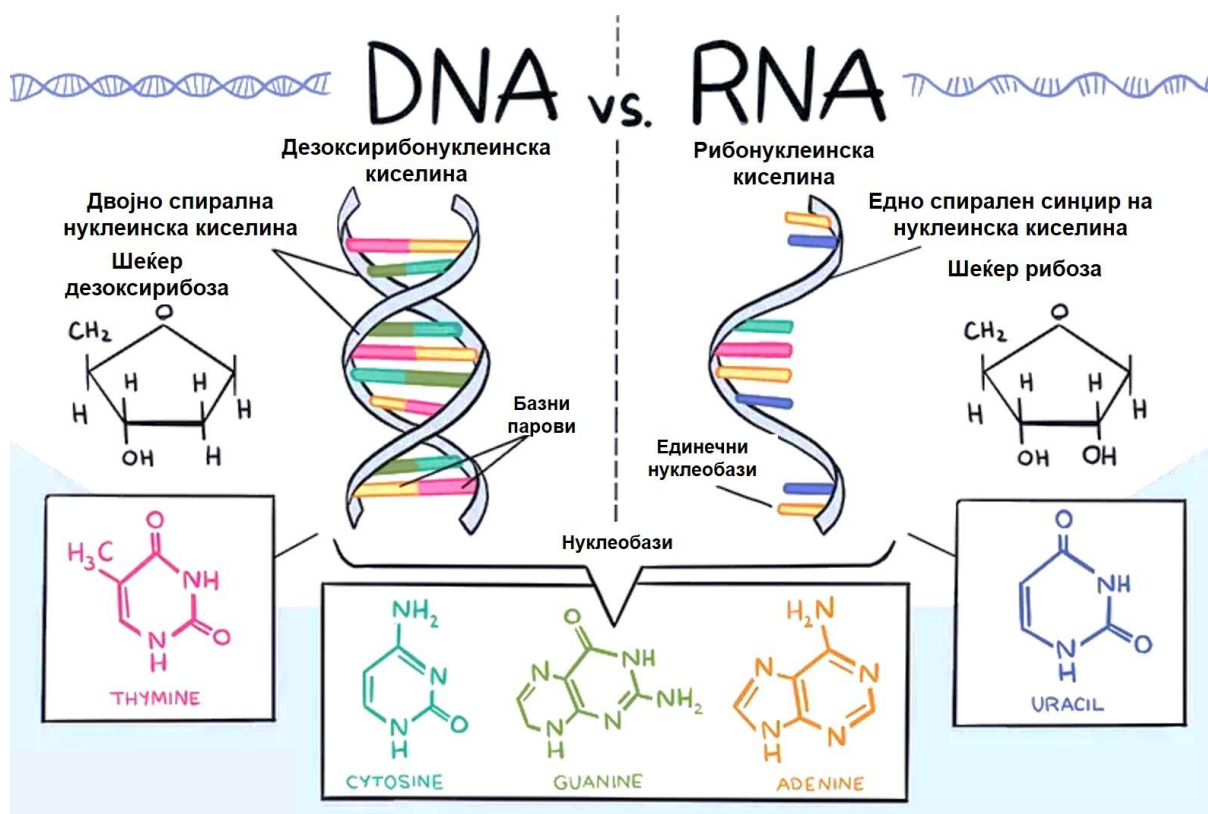
Нуклеинската киселина (НК) – во градбата кај растителните вирусни честички учествува или ДНК или РНК молекула. Нуклеинската киселина во градбата на честичката учествува со 2-40 %. Кај вирусите, (сите видови вируси во природата вклучувајќи ги и растителните), носител на генетската информација е само една нуклеинска киселина.

Врз основа на бројот на спирали, растителните вируси можат да бидат:

- едноспирални РНК (ssRNA);
- двојноспирални РНК (dsRNA);
- едноспирални ДНК (ssDNA);
- двојноспирални ДНК (dsDNA).

Нуклеинската киселина е еден макромолекул, кој кај издолжените вируси е во вид на развлечена спирала, а кај изометриските вируси во вид на неправилно набиена спирала. Во градбата на нуклеинските киселини влегуваат пентозниот шеќер, рибоза или дезоксирибоза, потоа фосфат, две пурински бази и две пиримидински бази. Пентозниот шеќер рибоза учествува во градбата на рибонуклеинската киселина, а шеќерот дезоксирибоза учествува во градба на дезоксирибонуклеинската киселина.

Во градбата на рибонуклеинската киселина учествуваат две пурински бази: гуанин (G) и аденин (A), и две пиримидински бази: цитозин (C) и урацил (U). Кај ДНК од пиримидинските бази имаме тимин (T) а кај РНК молекулот во структура ја има пиримидинската база урацил (U) (слика 19).



Слика 19. Разлика во градба на ДНК во однос на РНК
(адаптирано од <https://www.thoughtco.com/dna-versus-rna-608191>)

Делот од нуклеинската киселина составен од по еден молекул шеќер, фосфат и бази се нарекува **нуклеопептид**. Секој вирус има одреден број нуклеопептиди во нуклеинската киселина. Пр., кај вирусот на мозаикот на тутунот, тој број изнесува 6 300. Базите се распоредени по површината на нуклеинската киселина по одреден распоред, кој е специфичен за секој вирус, но и недоволно проучен кај ниту еден растителен вирус.

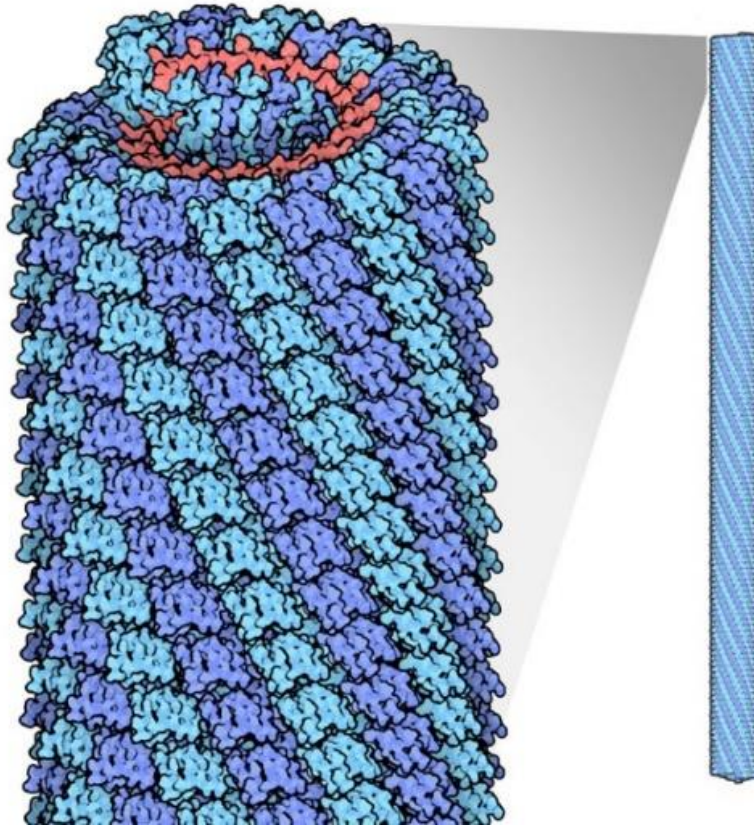
Поголем број фитопатогени вируси имаат едноспирална рибонуклеинска киселина. Новите истражувања потврдуваат и вируси кои имаат двоспирална РНК (пр., вирус на тумор на детелината и вирус на спеченост кај јачменот). Кај овие вируси количеството на нуклеинска киселина е за пет пати поголема од онаа кај другите вируси. Поретко, но сепак откриени се и вируси кои во својата градба имаат дезоксирибонуклеинска киселина (ДНК) (пр., вирус на мозаик на карфиолот). Вирусните честички со двоспирални нуклеински киселини се постабилни бидејќи нуклеинските киселини во вирусните честички се поврзани во парови.

Нуклеинската киселина (НК) е носител на сите биолошки активности на вирусите. Таа се размножува и управува со создавањето на новите генерации од нуклеинската киселина на вирусот.

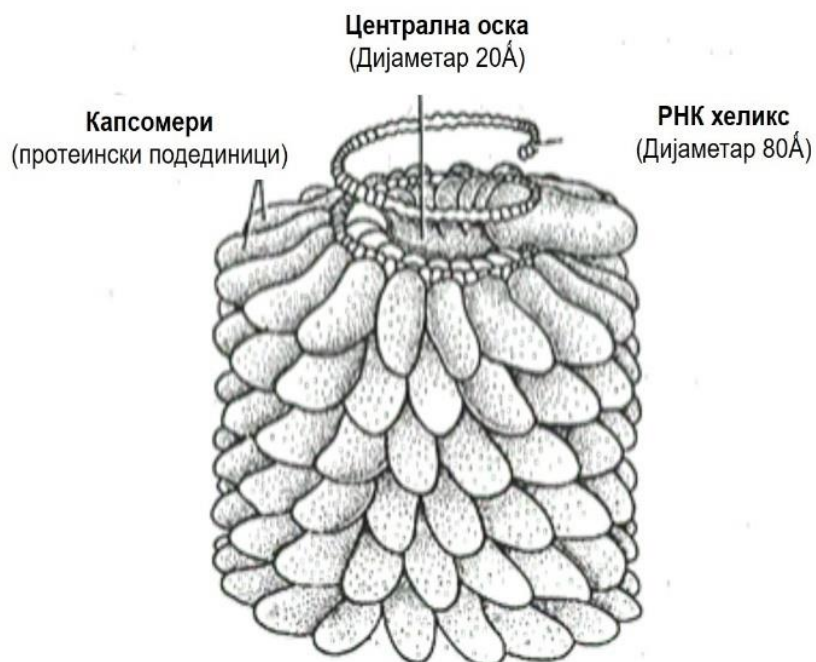
3.1.4. Градба на издолжените вируси

Спиралната градба кај издолжените вируси најдобро е проучена кај причинителот на мозаикот кај тутунот (TMV), а ги има следните карактеристики (слики 20 и 21):

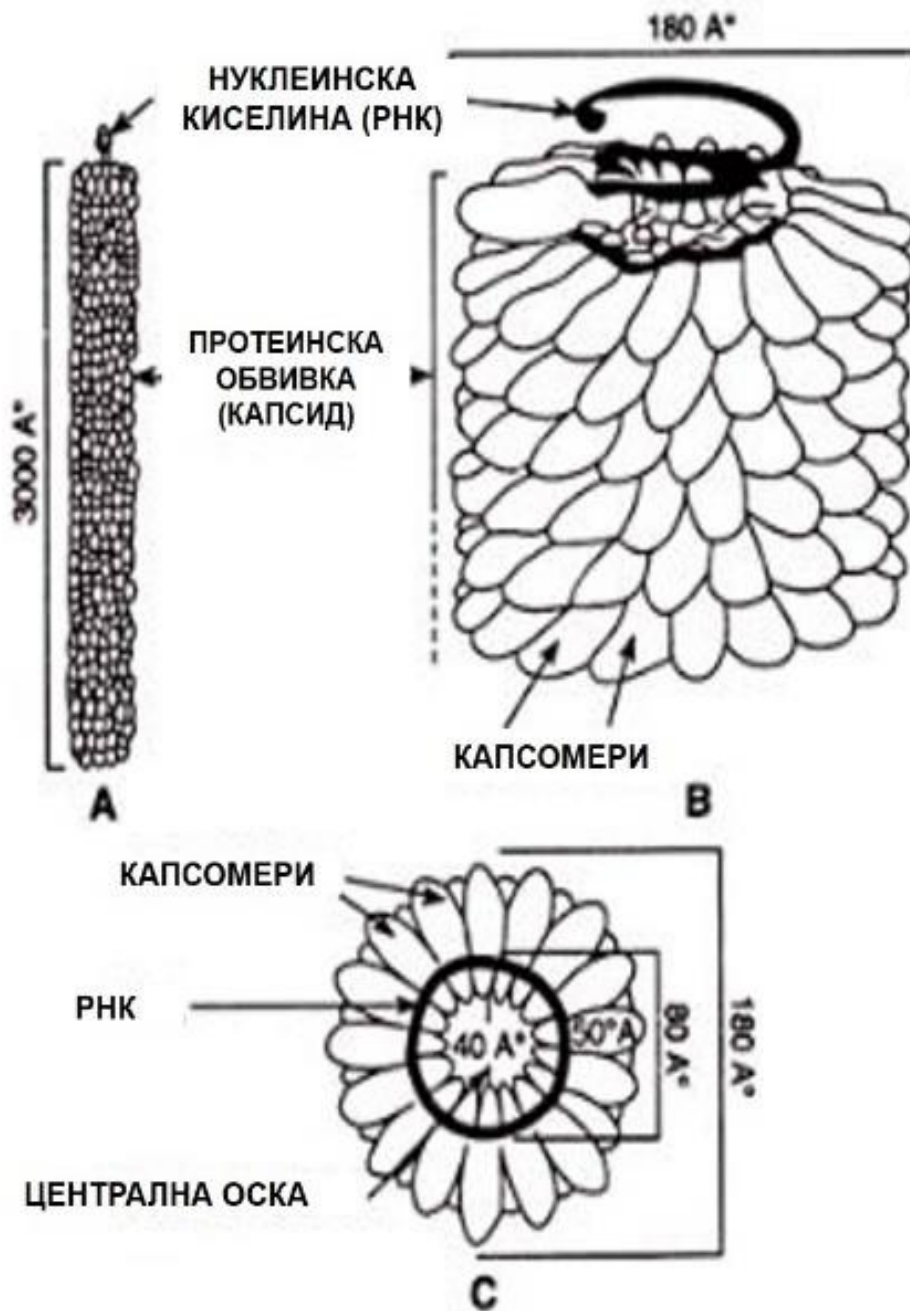
- Вирусните честички се стапчести (големина на TMV честичките е 300x18 nm) (слика 21);
- РНК е едноспирална, линеарна, а спиралата е на 4 nm растојание од централната осовина;
- РНК е изградена од 6340 нуклеотиди;
- РНК е вовлечена во протеинската обвивка и се наоѓа на 1/3 должина на протеинските подединици, мерејќи од централната оска;
- Капсидот е изграден од околу 2 130 протеински подединици, изградени од еден вид на протеин, кои се идентични и морфолошки и функционално;
- Молекуларната маса на подединиците е 17 530 Da, и има 158 аминокиселини со позната секвенца. Должината на секоја протеинска подединица е 80Å;
- На секоја протеинска подединица доаѓаат 3 нуклеотиди;
- На три завои во спиралата доаѓаат 49 протеински подединици, или на еден завој 16 и 1/3 протеински подединици;
- Градбата на трите завои е униформна и се повторува на секои 6,9 nm должина.



Слика 20. Изглед на TMV молекулот
<https://pdb101.rcsb.org/motm/109>



Слика 21. Структура на TMV молекулот (надворешен изглед)
 (адаптирано од <https://www.toppr.com/ask/question/give-a-brief-account-on-tmv/>)

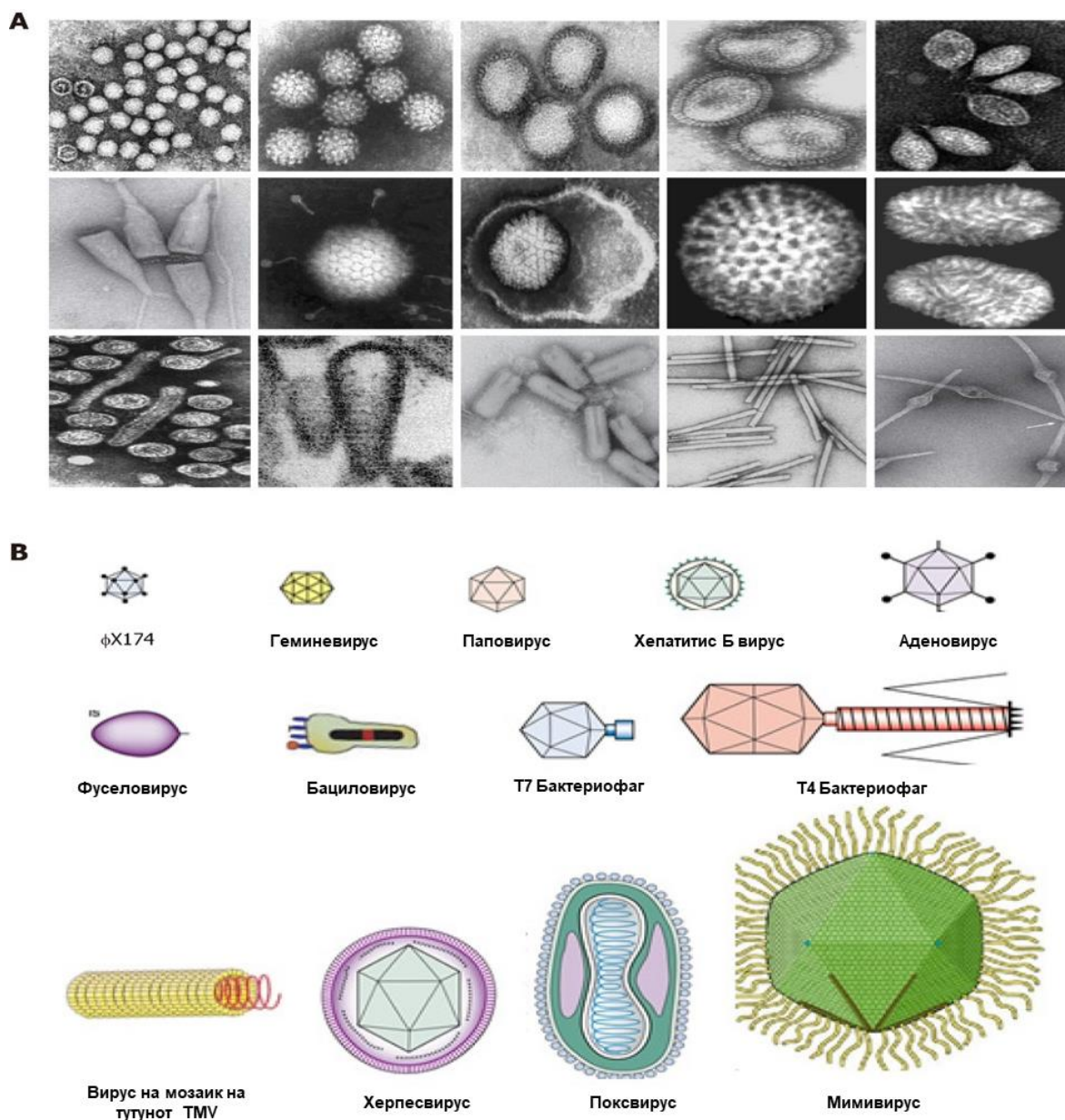


Слика 22. Структура на TMV молекулот
 (адаптирано од <https://www.toppr.com/ask/en-bd/question/explain-structure-of-tmv-with-labelled-diagram/>)

3.1.5. Градба на изометриските вируси

Од направените испитувања на поголем број на изометриски вируси со помош на методите на дифракција на X-зраците и електронска микроскопија, утврдено е дека капсидот, односно распоредот на протеинските поединици на изометриските вируси, е изграден на принципот на **икозаедарна симетрија** (симетрија која дава стабилност на структурата со голем број идентични единици) (слика 23).

Тоа е симетрија со ефикасен тип на градба, затоа што има стабилна структура со голем број идентични единици и бара минимална енергија за формирање на површинска решетка т.е. за врзување на структурните единици.

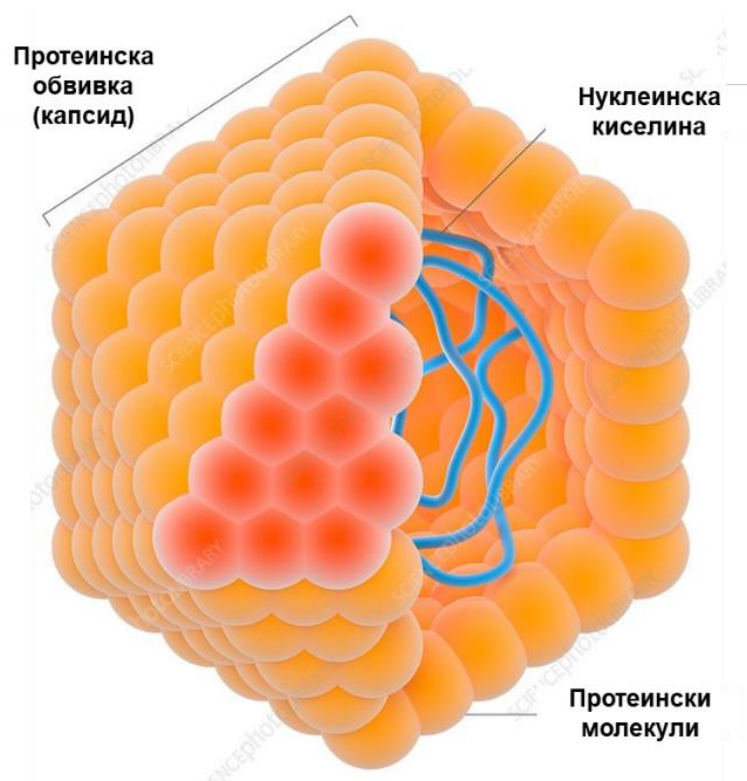


Слика 23. Структурна и морфолошка разновидност на вирусите (А. Електронска микроскопска фотографија на некои репрезентативни животински, растителни габни и бактериски вируси; В. Шематски приказ на вирионите подредени според нивната големина (20-400 nm) и облик (сферични, полиедарски, елиптични, извиени и сл.)

(Parvez M.K. (2020); Geometric architecture of viruses.,

адаптирано од <https://www.wjnet.com/2220-3249/full/v9/i2/5.htm>)

Икосаедарот има површина која е поделена на 20 рамнострани триаголници. Има 12 темиња во кои се вкрстуваат 5 раба. Се одликуваат со 3 рамнини на ротациона симетрија, кои спрема бројот на симетричните оски во нив изнесуваат 5:3:2 (слика 24).



Слика 24. Изглед на изометриски вирус со икосаедарска симетрија (адаптирано од <https://www.sciencephoto.com/media/648241/view/isometric-virion-illustration>)

Површината на еден триаголник е изградена од најмалку 3 градежни единици, што значи дека една вирусна честичка содржи 60 такви единици (20x3), кои како морфолошки видливи на електронски микроскоп претставуваат капсомери. Од 60 градежни единици по 5 се сретнуваат на секое теме и така градат пентамер.

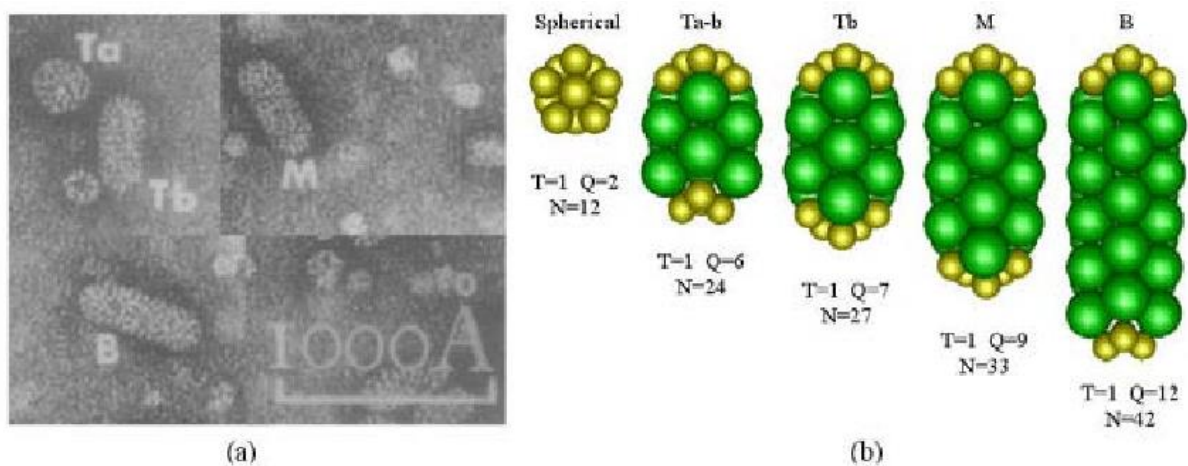
Некои вируси во својата градба имаат повеќе или помалку од 60 градежни единици. Помалиот број се должи на спојување на повеќе единици со триангулација на икосаедарот на поголем број рамнострани триаголници, при што се формира икозоделтаедар. Вирусите имаат иста икосаедарна градба без разлика на видот на нуклеинската киселина и бројот на спиралите.

3.1.6. Градба на полиморфните вируси

Кај поодделни групи на вируси забележана е разлика во морфологијата која се означува како **полиморфизам**. Пример за полиморфен вирус е вирусот на мозаикот на луцерката (*Alfalfa mosaic alfamovirus* (AMV)), за кој долго време се мислело дека има 4 групи на честички: изометриски (18-19 nm) и бациловидни (26-39x18 nm, 53x18 nm, 59x18 nm) кои имале слични особини:

- ❖ Основната морфолошка единица има пречник од 9,6 nm. Со спојување на 12 вакви единици во изомериска честичка се добива икосаедар со пречник од 18-19 nm, што одговара на најмалата честичка на AMV;
- ❖ Секоја морфолошка единица е изградена од 5 протеински поединици, што значи дека најмалата честичка има вкупно 60 хемиски (протеински) поединици;
- ❖ Чекор на зголемување на останатите честички е по 3 хексамери (18 протеински поединици);
- ❖ Според најнови истражувања *Alfalfa mosaic alfamovirus* (AMV) има 4 главни групи на честички со слични димензии и облик:
 - а) изометриски (Т_а) 19 nm
 - б) бациловидни (Т_б) 36x19 nm
 - в) бациловидни (М) 48x19 nm
 - г) бациловидни (Б) 58x19 nm

(слика 25).



Слика 25. *Alfalfa mosaic alfamovirus* (AMV) ((a) Електронска микроскопска фотографија на AMV честичките (b) од сферичните типови Т_а, и некои издолжени видови Т_б, М и В)

(https://www.researchgate.net/figure/Alfalfa-mosaic-virus-AMV-a-Electron-micrograph-showing-AMV-particles-of-spherical_fig17_237057093)

Со проучувањето на структурната градба на протеинската обвивка кај вирусот на мозаикот на луцерката, било утврдено дека сите честички на вирусот на мозаикот на луцерката имаат идентичен хемиски состав.

Честичките на вирусот на мозаикот на луцерката се нестабилни и многу лесно се разградуваат на протеин и РНК на вирусот, особено при повисока концентрација на соли. Стабилноста (вирусните компоненти во вирусната честичка да можат да се држат заедно), е условена од интеракцијата меѓу протеинот и РНК од вирусот.

ПОГЛАВЈЕ 4. ФИЗИЧКИ, БИОФИЗИЧКИ, ХЕМИСКИ И АНТИГЕНИ ОСОБИНИ НА РАСТИТЕЛНИТЕ ВИРУСИ

- 4.1. Физички особини**
- 4.2. Биофизички особини на растителните вируси**
- 4.3. Хемиски особини на вирусите**
- 4.4. Антигени особини на вирусите**



ПОГЛАВЈЕ 4. ФИЗИЧКИ, БИОФИЗИЧКИ, ХЕМИСКИ И АНТИГЕНИ ОСОБИНИ НА РАСТИТЕЛНИТЕ ВИРУСИ

4.1. Физички особини

Според обликот, градбата и составот, растителните вируси исполнуваат карактеристични физички особини, кои овозможуваат нивно полесно проучување, познавање и дефинирање. Има неколку специфични физички особини на вирусите: хидрометриски, електрофоретски и оптички особини.

(1) Хидродинамички особини

Овие особини се однесуваат на способноста на вирусните честички да се движат во течна средина. Вирусните честички создаваат суспензија во течната средина (диспергент), како што е растителниот сок, физиолошкиот раствор и др. Динамичните особини во такви суспензии се одредени и зависат од видот на вирусот, особината на диспергентот како и надворешните услови.

Една од значајните хидродинамички особини е седиментацијата (таложето) на вирусните честички во диспергентот. Седиментацијата се карактеризира со одредена брзина и седиментациона константа.

Брзината на седиментација на вирусните честички зависи од нивниот број и облик, потоа од составот на диспергентот и земјината тежа или гравитацијата. Честичките на растителните вируси се многу лесни (нивната молекуларна тежина изнесува од 16^6 до 10^8), па затоа и нивното исталожување не може да биде доволно брзо под дејство на земјината тежа. Затоа, за да се забрза процесот на таложување, вирусната суспензија се подложува и на центрифугирање, и со помош на Земјината тежа и центрифугирањето, доаѓа до зголемување на брзината на исталожување за 10^3 до 3×10^5 .

Во случај на јаки центрифугални сили, кога ќе се совлада отпорот на дифузионите движења, во суспензијата се формираат три зони:

- зона без вируси (во центрипеталниот дел);
- преодна зона (во која концентрацијата на вирусот брзо се менува);
- зона со јаки концентрации на вирусот (во центрифугалниот дел).

Мерењето на брзината на седиментацијата може да се оценува во друга особина на вирусите како што е молекуларната градба и молекуларната тежина.

(2) Електрофоретски особини

Електрофорезата е процес на движење на наелектризираните честички под дејство на електричното поле. Благодарение на протеинската обвивка, вирусните честички имаат електрофоретски особини и способност да се наелектризираат.

Наелектризираните вирусни честички предизвикуваат јонизирачки киселински и базни групи на аминокиселини, кои учествуваат во градба на капсидот. Електрофоретски се активни само оние групи кои се наоѓаат на површината на капсидот, затоа што тие се во непосреден контакт со електричното поле.

Наелектризираноста на вирусната честичка, која се наоѓа во внатрешниот дел, не делува на електрофоретското придвижување. Затоа, помеѓу вирусните честички со нуклеинска киселина и протеинската обвивка на истиот вирус без нуклеинска киселина, не постои електрофоретска разлика. Јачината на наелектризираноста на вирусните честички може да биде различна и зависи пред сè од степенот на дисоцијација на киселинските и

базните групи во електричното поле. На степенот и правецот на дисоцијација, делува рН вредноста и концентрацијата на јоните во електролитот. Пр., при ниска рН вредност, постануваат наелектризирани базните групи: лизин, хистидин и аргинин, а при висока рН вредност наелектризирани се киселинските групи аспарагин и глутамин.

За секој вид вирус постои посебна рН вредност на која се јонизираат ист број на базни и киселински групи, а тоа е ситуација кога вирусните честички не се наелектризирани. Оваа рН вредност се нарекува изоелектрична точка на вирусот. При сите други рН вредности, вирусните честички се наелектризирани позитивно или негативно и затоа се движат во електричното поле. Позитивно наелектризираните честички се движат кон негативното поле (анода), а негативно наелектризираните честички кон позитивното поле (катода).

Значењето на електрофорезата во вирусната дијагностика е огромно особено затоа што се овозможува подготовка на хомогени пречистени вирусни суспензии.

(3) Оптички особини. Вирусните честички и нивните делови се карактеризираат со одредени оптички особини, што овозможува нивно разликување и следење во течноста во која градат суспензија.

- расејување на светлината – вирусите како и другите микроорганизми, имаат способност во суспензија да ја расејуваат обичната светлина. На степенот на расејување на светлината делува концентрацијата на вирусот, големината на неговата честичка и брановата должина на светлината. Со мерењето на расејувањето на светлината при различни услови на нејзино продирање може да се оцени молекуларната тежина на вирусните честички, независно од нивниот облик, големина и конфигурација.

Едно од најзначајните достигнувања за проучување на вирусите било откривањето на **електронската микроскопија**, револуционарно откритие во развој на вирусологијата, биологијата и другите научни области. Електронскиот микроскоп бил за прв пат констатиран од 1920 г. до 1930 г. а првиот вирус кој почнал да се проучува во далечната 1939 г. бил вирусот на мозаикот на тутунот. Од тогаш до ден денес, електронската микроскопија постојано се усовршувала, а со тоа се отварале нови можности за проучување на вирусите и другите биотски и абиотски причинители.

Основна карактеристика на електронската микроскопија по која се разликува од обичната микроскопија, е видот на зрачењето и системот за добивање на сликата, како и раздвојната моќ на честичките кои се проучуваат. Во електронската микроскопија, наместо обична видлива светлина се користи сноп на електрони (Шутић, 1980).

4.2. Биофизички особини на растителните вируси

Биофизичките особини на вирусите се однесуваат на промените на вирусните честички под дејство на различни физички фактори. Тие се зависни од обликот, структурата и хемиската градба на вирусните честички. Од физичките фактори кои се значајни за особините и активноста на вирусните честички, се: топлина, зрачење, притисок, ултразвук, влажност, временски услови и др. Сите овие фактори делуваат врз биолошките особини на вирусите (инфективноста, размножувањето, антигеноста и одржувањето на виталноста надвор од живите клетки). Науката и истражувањата за биофизичките особини на растителните вируси, оди во насока за пронаоѓање на можности за инактивирање и примена на истите во терапијата (лекувањето/спречувањето) на вирусните појави.

Промените во инфективноста, под дејство на физичките фактори, кај одделните вируси се константни и се нарекуваат **физички константи**, а служат како дополнителни особини за детерминација на вирусите. Најважни биофизички константи се: термална точка на инактивација, крајна точка на разредување на вирусот и одржување на

инфективноста на вирусот во *in vitro*.

Кога вирусната суспензија ќе се подложи на дејство на прогресивно зголемување на температурата за време од 10 минути, се намалува инфективноста и антигената способност на вирусот. Температурата при која вирусната суспензија (инокулумот) ќе ја изгуби инфективноста се нарекува **термална точка на инактивација**. На прашањето да се дефинира колку изнесува таа термална точка на инактивација одговорот се насочува кон најниската температура при која престанува инфективната способност на вирусот. Термалната точка на инактивација за одделни вируси е различна и се движи од 45°C (пр., за вирусот на бронзена некроза на домотот *Tomato spotted wilt tospovirus* TSWT) до 90°C (пр., за различни соеви од вирусот на мозаик на тутунот *Tobacco mosaic tobamovirus* TMV). Термалната точка на инактивација може да биде различна и за одделни соеви од ист вирус (пр., сој на В вирусот на некроза кај тутунот *Tobacco necrosis necrovirus* TNV термалната точка на инактивација изнесува 80-85°C, а кај сојот А 85-90°C, кај сојот D и E 90-95°C). Споредено кај различни вируси и нивни соеви, просекот на термалната точка се движи во граници од 55° и 70°C.

Количеството на вирусните честички во суспензијата влијае врз инфективноста на вирусите. Со разредување на инокулумот (растителниот сок од заразените растенија), инфективната способност на вирусот опаѓа. Разредувањето во кое инфективноста на вирусот ќе опадне толку што не ќе може да се констатира, претставува биофизичка константа и се нарекува **крајна точка на разредувањето**. За различни вируси оваа точка на разредување се движи во границите од 10^{-1} до 10^{-7} . Вирусот на мозаик на тутунот кој во природата се пренесува по механички пат, има висока крајна точка на разредување (10^{-7}), додека други примери (како вирусот на мозаикот на краставицата и вирусот на мозаикот на луцерката), имаат крајна точка на разредување 10^{-4} .

Кога инфективниот растителен сок (инокулум) се чува при нормални услови на температура од 20°C, за одреден временски период се губи инфективноста. Најдолгото задржување на инфективноста, при чувањето во нормални услови претставува биофизичка константа и се означува како **должина на инфективноста на вирусот во *in vitro***. Големината на оваа константа зависи од повеќе фактори, како што се: количество на растителен сок, количество на вирусни честички, и е во директна зависност од степенот на механичко пренесување на вирусите во природата.

Биофизичките константи на вирусите можат да се менуваат во зависност од растението од кое се подготвува растителниот сок (инокулум) за проучување, од начинот на приготвување на инокулумот, надворешните услови во тек на подготовка на материјалот и др. според претходно утврдени методи и услови (Пејчиновски и Митрев, 2007а).

4.3. Хемиски особини на вирусите

Проучувањето на хемиските особини на вирусите покажало значителни и интересни резултати, особено преку примерот на проучување на протеинската градба на вирусот на мозаикот на тутунот, како еден од најпроучуваните вируси. Кога станува збор за хемиски особини на вирусите се мисли на хемискиот состав и улогата на хемиските соединенија кај вирусните честички.

Основни хемиски составни компоненти

Кај секоја вирусна честичка основни хемиски компоненти се протеините и нуклеинските киселини. Протеините влегуваат во состав на протеинската обвивка (капсид), а нуклеинската киселина во состав на внатрешниот дел на вирусот (јадротот). Овие хемиски компоненти секогаш кај еден ист вид вирус се наоѓаат во иста количина, но кај различни видови вируси количината на хемиските компоненти е различна.

За сите видови вируси, заедничко е што во градбата нуклеинските киселини се застапени помалку од содржината на протеините. Пр., кај изометриските вируси нуклеинската киселина е застапена со 5-45%, а кај издолжените вируси со околу 5% од

неговата вкупна количина. Пр., кај вирусот на мозаикот на краставицата односот помеѓу протеините и нуклеинските киселини изнесува 82% : 18%; кај вирусот на мозаикот на компирот 94% : 6%.

Протеин. Протеинот кај вирусните честички се синтетизира во растителните клетки како што се синтетизираат и другите клеточни протеини. Во својот хемиски состав, протеините имаат две функционални групи, па затоа се понесуваат и како бази (-NH₂) и како киселина (-COOH). Во растворот овие групи дисоцираат и се движат, поради наелектризираната состојба, на спротивните полови во електричното поле, што покажува на електрофоретската особина на вирусите.

Во градбата на протеините учествуваат 20 аминокиселини, кои се поврзани меѓу себе со пептидни врски. Според бројот на аминокиселините, меѓусебно кои се поврзуваат, настануваат: дипептиди, трипептиди, се до полипептиди, кои како хемиски единици учествуваат во градба на протеинската обвивка. Редоследот (секвенцата) на аминокиселините во протеините е подреден според генетска информација на нуклеинските киселини карактеристичен за еден вид вирус.

Формирањето на протеинската обвивка се одвива во тек на 4 различни организациони структури на протеинот: (1) примарна структура на протеинот е составена од аминокиселини кои се поврзани по одреден редослед; (2) секундарна структура во која полипептидниот ланец станува спирален; (3) терцијална структура настанува после завивањето во секундарната структура, кога структурата постанува тродимензионална; (4) квартална структура кога потполно се формирани протеинските единици кои се основната градба на протеинската обвивка.

Хемиските единици кои се основен градбен дел на протеинската обвивка, можат да бидат составени од еден или повеќе видови полипептиди. Бројот на хемиските единици е ист кај еден ист вид вирус, но различен за различни видови вируси. Кај издолжените вируси бројот на хемиските соединенија е поголем поради нивниот капсид кој се карактеризира со развиена површина. Пр., капсидот на издолжениот вирус на мозаик на тутунот има околу 2 130 хемиски единици, а вирусот на мозаикот на компирот околу 1 475. Кај вирусите со изометриски облик бројот на хемиски единици е помал, пр., вирусот на мозаикот на краставицата, во капсидот има 176-182 хемиски единици.

Хемиските единици се разликуваат по бројот на аминокиселините кои учествуваат во нивната градба. Тој број, според видовите на вирусите варира од 150 до 600. Бројот на присутни аминокиселини (20) во градба на протеинските единици покажува дека тие се повторуваат во редоследот. Пр., кај вирусот на мозаикот на тутунот повторувањата на аминокиселините одат по следниот редослед: 18x аспарагин, 16x трионин, 16x серин, 16x глутамин, 8x пролин, се до вкупен број 158 (Kado & Agrawal, 1972).

Сите делови на вирусот, според хемиската градба и местото каде се наоѓаат, имаат одредена улога во одржување на активностите на вирусните честички.

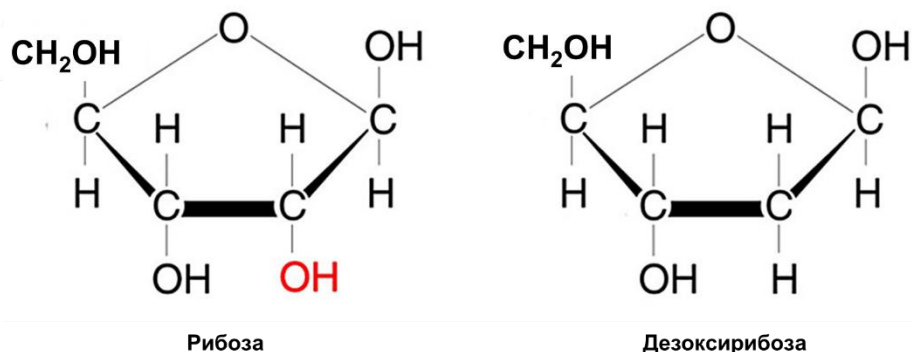
Една од главните улоги на капсидот е заштита и зачувување на вирусното јадро од штетни дејства на надворешната средина. Се наоѓа на надворешната страна од вирусната честичка, а својата улога ја остварува по механички пат. Капсидот има протеински состав, отпорен кон дејство на ферментот нуклеаза, и на тој начин има заштита од дејството на нуклеинските киселини, кои се носители на видот на вирусот. Кога протеините се оштетени или разградени, се ослободува нуклеинската киселина која станува подложна на дејство на споменатите ферменти.

Благодарелејќи на фините пори кои се наоѓаат на неговата површина, капсидот овозможува и одржување на потребниот баланс помеѓу внатрешноста на вирусот и надворешната средина.

Според протеинската природа, капсидот е носител на антигените особини на вирусите. Активни како антигени, вирусите предизвикуваат создавање на антитела посебно кај топлокрвните животни. Врз основа на овие реакции, се подготвуваат антисеруми, кои имаат еднаква примена како во растителната, така и во животинската вирусологија (Шутић, 1980; 1982; Пејчиновски и Митрев, 2007а).

Нуклеински киселини – основни градбени единици на вирусното јадро. Во градба на вирусната честичка, учествува само една нуклеинска киселина, или рибонуклеинска киселина РНК или дезоксирибонуклеинска киселина ДНК. Нуклеинската киселина претставува еден макромолекул, кој кај издолжените вируси е во облик на правилно растегната спирала, а кај изометриските вируси во вид на неправилна збиена спирала.

Во градба на нуклеинската киселина учествува пентозен шеќер рибоза или дезоксирибоза, потоа фосфат, две пурински и две пиримидински бази. Рибозата учествува во градба на рибонуклеинската киселина, а дезоксирибозата во градба на дезоксирибонуклеинска киселина (слика 26).



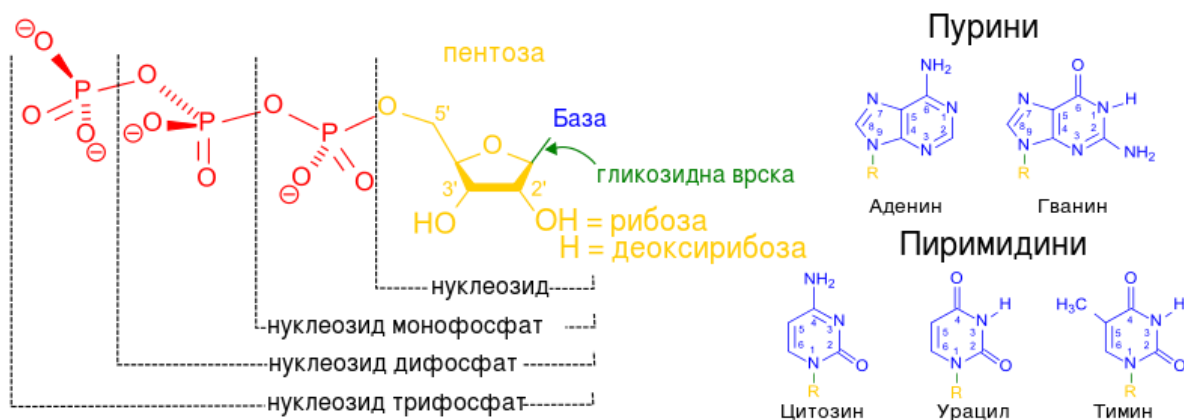
Слика 26. Градба на пентозен шеќер рибоза и дезоксирибоза (<https://abritvs.com/wp-content/uploads/2015/03/ribosedes-1.jpg>)

Фосфатната група е иста како за двете нуклеински киселини, а во градбата на рибонуклеинската киселина учествуваат две пурински бази: гванин (G) и аденин (A) и две пиримидински бази: цитозин (C) и урацил (U) (слика 27).

Истите бази учествуваат и во градбата на дезоксирибонуклеинската киселина, само што урацилот е заменет со тимин (T).

Соединението помеѓу шеќерот и базата се нарекува **нуклеозид**, а делот на нуклеинската киселина составен од молекул на шеќер, фосфат и база познат е како **нуклеотид**.

Нуклеотидот (мононуклеотидите) меѓусебно се поврзани преку фосфатна група и така го сочинуваат полинуклеотидниот ланец. Бројот на нуклеотидите во градбата на нуклеинската киселина е карактеристичен за еден вид вирус (пр., кај вирусот на мозаикот на тутунот овој број изнесува 6340).



Слика 27. Градба на две пурински бази: гванин (G) и аденин (A) и две пиримидински бази: цитозин (C) и урацил (U)

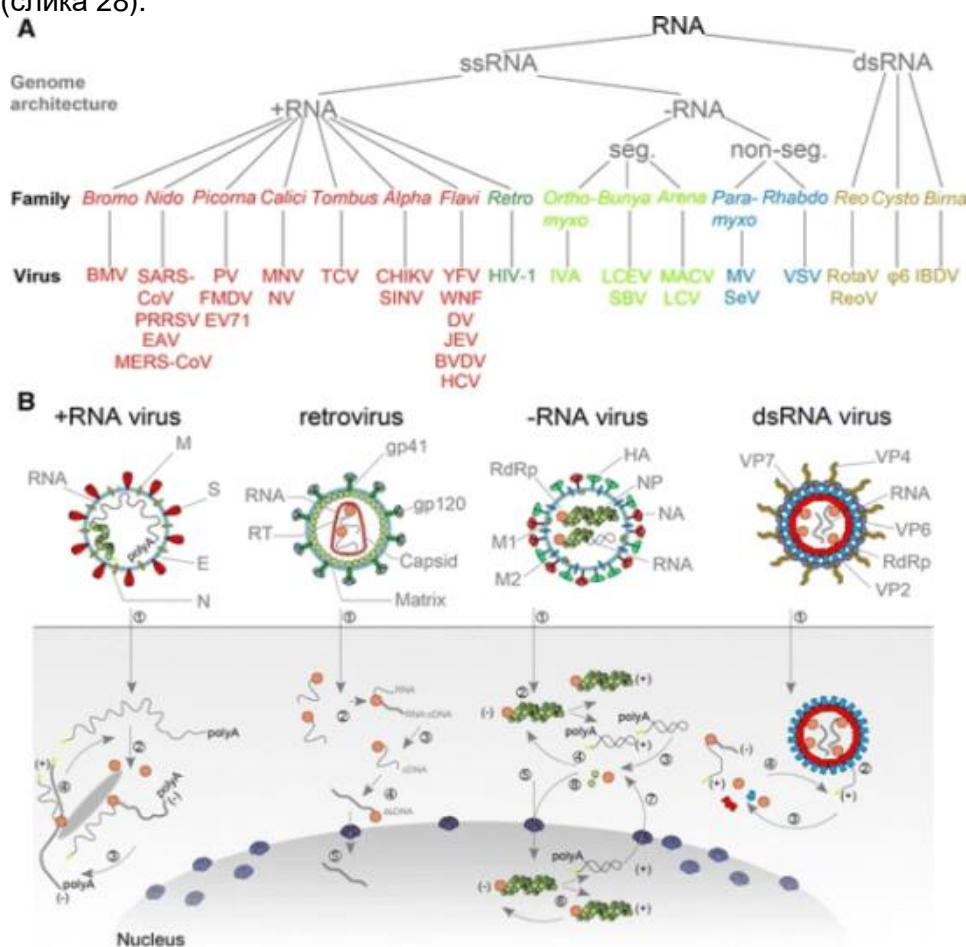
(адаптирано од <https://mk.wikipedia.org/wiki/нуклеотид>)

Меѓусебниот однос на базите зависи од бројот на спиралите во градбата на вирусот. Базите на двоспиралните вируси се јавуваат во ист број. Така, кај дезоксирибонуклеинската киселина (ДНК), $A=T$ и $C=G$, а бројот на пиримидинските бази е еднаков на бројот на пуринските бази: $A+G = T+C$. Така на пример, бројот на базите во нуклеинската киселина кај фагот Т7 изнесува: $A=26$, $T=26$, $G=24$ и $C=24$.

Базите се распоредени по должина на нуклеинските киселини по одреден редослед. Одредувањето на редоследот е многу значајно за проучување на особините на вирусот, а посебно за нивните генетски особини. Одредување на точниот редослед на базите во најголем број случаи е многу тешко затоа што при подготовката на нуклеинските киселини доаѓа до нивно кинење на делови, со што се нарушува редоследот во полинуклеотидниот ланец.

Истражувањата во растителната вирусологија, на почетокот на развојот потврдиле постоење само на **едноспирални растителни вируси (ssRNA)**, изградени само од една нуклеинска киселина. Поновите истражувања откриле двоспирална градба (пр., кај вирусот на туморот на детелината и вирус на џуџест ориз). Кај овие примери на вируси, количината на рибонуклеинската киселина е за пет пати поголема отколку кај другите растителни вируси.

Двоспиралните нуклеински киселини (dsRNA) се многу постабилни за разлика од едноспиралните, затоа што настанатите спирали се наоѓаат во парно поврзување во конфигурацијата на вирусните честички. Нуклеинската киселина се наоѓа во внатрешниот дел на вирусната честичка, заштитена од непосредно дејство на надворешната средина. Таа е носител на сите биолошки активности на вирусите. Со умножување на нуклеинската киселина се создаваат нови генерации на киселини на вирусот (слика 28).



Слика 28. Приказ на две форми на рибонуклеинска киселина (едноспирална ssRNA и двојноспирална dsRNA)

(<https://www.differencebetween.com/difference-between-ssrna-and-dsrna/>)

Паразитизмот на вирусите, исто така, се базира на нуклеинската киселина и е целосно поврзан со репродукцијата на вирусите. Издвоениот капсид не е инфективен, но самата нуклеинската киселина е инфективна. Инфективноста на нуклеинската киселина е целосна во присуство на капсидот, а самата нуклеинска киселина е носител на генетските особини на вирусот.

Кај генетските информации, нуклеинската киселина управува со синтезата на новите вирусни честички во клетката и со тоа обезбедува наследување на особините и одржување на соевите на вирусот. Со оштетување и разградување на нуклеинските киселини, престанува истовремено и постоење на инфективно активните вирусни честички.

4.4. Антигени особини на вирусите

Антигените се агенси од нежива или жива природа, и доколку бидат внесени во животинскиот организам, предизвикуваат образување на посебни одбранбени соединенија познати како **антитела**.

Антигени од нежива природа се белковините, полисахаридите и токсините во чии состав влегуваат споменатите соединенија. Белковините се најактивни антигени поради нивната специфичност и голема градба на молекулите во кои се наоѓаат многу активни групи од атоми. Поголем број од овие антигени имаат молекуларна тежина поголема од 10.000 Da. Аминокиселините како мали молекули не можат да предизвикаат создавање на антитела, но тие се способни да реагираат серолошки со антителата од антигените во чија градба учествуваат. Таквите мали молекули се нарекуваат **хаптени**.

Во антигени од жива природа спаѓаат: паразитите, бактериите и вирусите, во чија градба учествуваат споменативе антигени материи.

Вирусите се многу активни антигени, а нивната активност е условена од белковинската градба на капсидот. Капсидот е изграден од идентични белковински единици и затоа вирусите се карактеризираат со униформна антигена активност. Вирусите во чија градба на капсидот учествуваат различни белковини, се карактеризираат со различна антигена активност. Антигената активност на белковините од капсидот е најсилна кога вирусната честичка е комплетна. Со отстранување на рибонуклеинската киселина од вирусот, антигената активност се задржува но со послаб интензитет.

Во телото на животните вирусите кога ќе се внесат покажуваат два вида на активност: прво, како антигени влијаат на животинскиот организам да создаде антитела што се специфични за тој антиген. Оваа активност се нарекува **имуногеност**, а според неа антигенот е наречен **имуноген**. Второ, создадените антитела имаат способност да се врзуваат со антигените, при што стануваат инактивирани. Оваа способност се нарекува **антигеност**.

Антителата се образуваат во заштитното ткиво на животинскиот организам т.н. ретикуло-ендотелен систем (REC), што се наоѓа во различните органи како во црниот дроб, слезината, лимфните јазли, коскената срцевина.

Откако вирусите ќе бидат внесени во организмот, во ткивата се образуваат имуноцити, чии клетки се богати со РНК. Потоа, клетките се преобразуваат во лимфоцити кои доаѓаат во крвотокот и се шират низ целиот организам. Понатаму, се преобразуваат во плазматски клетки богати со протоплазма и РНК, во кои се образуваат антитела кои со крвта се пренесуваат низ целиот организам.

Антителата по својот хемиски состав се белковински соединенија кои спаѓаат во групата на глобулините и затоа се нарекуваат **имуноглобулини**.

Растителните вируси иницираат создавање на два типа на антитела: IgG и IgM. IgG антителата се глобулини со молекуларна тежина $1,5 \times 10^5$ Da, со издолжен облик и се создаваат многу бргу, само за неколку дена по внесување на вирусот во животинскиот организам, а по создавањето нивниот број нагло почнува да расте. IgM антителата се макроглобулини со молекуларна тежина 8×10^5 Da, со пајажинест облик и после внесување на антигенот нивниот број значително почнува да опаѓа. Најчесто се образуваат IgM антитела.

Антителата се наоѓаат во серумот од крвта. По згрутчувањето на крвта, серумот лесно се одвојува како течна фаза и таквиот издвоен серум се нарекува **имуносерум**. За добивање на антисерум најчесто се користат неколку животни како: зајак, коњ, морско прасе, бел глушец, а помалку некои птици и риби. Животните се имунизираат парентерално (интравенозно, интрамускуларно или супкутано), со делумно или со добро пречистен сок од заразени растенија со соодветен вирус. Заразениот растителен материјал (инокулумот), преку соодветна методологија, треба да е добро пречистен и концентриран.

Имуногената и антигената способност на вирусите има огромно значење во растителната и анималната вирусологија. Создавањето на антителата и нивното инактивационо дејство врз антигените (вирусите) е многу значаен имунолошки механизам во заштита на човекот и животните од опасни болести предизвикани од вирусите, врз основа на што се развила **науката имунологија**.

Начинот на создавање на имунитет кај човекот и животните може да биде природен и вештачки. При **природниот или активниот имунитет** се создаваат специфични антитела кои инактивираат соодветни на нив антигени, присутни во организмот на човекот и животните. **Вештачкиот или пасивниот имунитет** се постигнува со внесување на готови антитела (имуносерум) во организмот, па на тој начин на почеток се спречува или се отстранува инфекцијата. И во двата случаја, имунитетот се одликува со целосно отстранување или отсуство на патогени организми.

Растенијата не создаваат антитела, па ваквиот опишан механизам на активна отпорност и отпорност кај растенијата не постои. Во растението се активираат посебни сопствени одбранбени реакции со кои се спречува размножувањето на вирусите во растителната клетка и со некроза на растителните клетки вирусот понатаму не може да се шири. На овој начин настанува **стекнатата отпорност**, која резултира со заздравување на заразените растенија.

Антигените реагираат со антителата кај човекот и животните. До нивна меѓусебна реакција може да дојде и доколку се измешаат надвор од организмот. Доколку антигените (вирусот од растителниот сок) се измешаат со антителата (антисерумот од имунизираните животни), во микроцентрифугална епруветка ќе настапи таложјење, а оваа реакција позната како **серологија** има многу важна улога во вирусологијата и биологијата.

Антигените реагираат само со своите антитела, а оваа реакција се нарекува уште **„клуч и брава“**, што значи оваа специфична реакција се должи на посебната градба на површината на антителата, од обликот на наелектрираноста и хидрофобноста според соодветни делови од антигените.

Антигените и антителата, поради своите специфични хидрофилни групи, во течна средина имаат одредени хидролитски особини. Кога тие ќе се измешаат со нивното врзување настанува хидрофобен комплекс антиген – антитело кој се таложува.

Според големината на антигените постојат два вида на таложење:

- преципитација и
- аглутинација.

Преципитацијата настанува кога како антиген се јавуваат молекули, пр., белковини и полисахариди. Добиениот преципитат е фин, мрежест и лесно се кине.

При **аглутинацијата** учествуваат крупни антигени: бактериски клетки или клеточни органоиди, пр., хлоропласти и сл. Добиениот талог е груб и со цврст изглед.

Растителните вируси според големината се наоѓаат помеѓу молекулите и клетките и нивното таложење при серолошките реакции се нарекува преципитација.

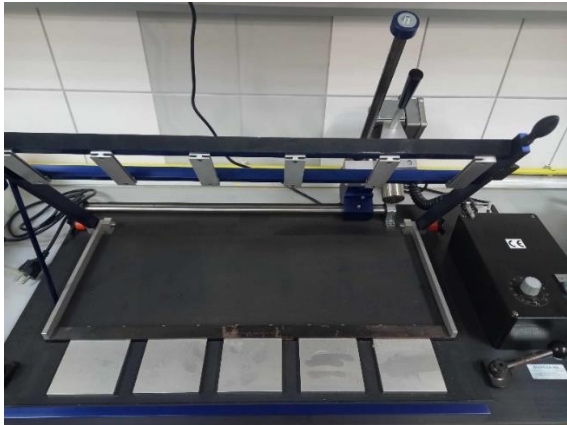
Процесот на таложење на **антиген-антитело комплексот**, може да се види во течна и во цврста средина. Течната средина претставуваат капките од антигенот и антителата што се мешаат на стаклените плочки и преципитацијата се следи под микроскоп. Поголеми количества на суспензии од антиген и антитела, може да се измешаат во епрувети во кои после мешањето се јавува серолошка реакција.

Како цврсти подлоги за проучување на таложењето се користат полисахаридите, кои преминуваат во состојба на гел, како: агар, агароза, сефадекс и др. Овие подлоги имаат ситни пори преку кои дифундираат антителата и антигените, и при нивното спојување (доколку се специфични) ќе се појават белузникави линии на преципитација. Оваа метода се нарекува **гел-дифузиона метода**.

За идентификација на вирусите, далечната 1977 г. била развиена ELISA методата (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) методата која се користи до ден-денес (Clark & Adams, 1977). На почеток кога се оптимизирал методот, биле користени поликлонални антитела, но поради специфичните реакции денес се користат моноклонални антитела, кои со соодветни антигени даваат посспецифични реакции.

ELISA-методот е аналитичка биохемиска техника што користи антитела за откривање на присуството на специфични биомолекули (т.е. пептиди, протеини и хормони) во сложен примерок. Овие примероци можат да бидат единечни протеини или сложени мешавини. **ELISA** е кратенка за **Enzyme Lined Immuno Sorbent Assay**, техника на анализа базирана на плочи, дизајнирана за откривање и квантифицирање на растворливи супстанции како што се: пептиди, протеини, антитела и хормони.

Принципот на оваа реакција е користење на антитела на чија површина се врзани молекули од некој фермент (најчесто фосфатаза) и кога ќе стапат во реакција со антигенот што сакаме да го одредиме, доаѓа до промена на бојата (слика 29Г). Доколку бојата е поинтензивна, тоа значи дека поврзаните антитела со ферментот стапиле во реакција со антигенот и тоа може да се забележи со голо око. Но, најчесто читањето на резултатите денес оди преку посебен ELISA читач (слика 29Д).



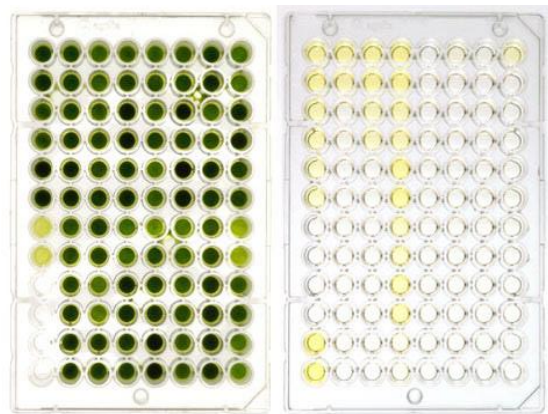
А



Б



В



Г



Д

30 мин	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.969	1.002	2.044	1.940	1.355	1.571	1.606	1.542	0.413	0.363	0.582	0.825
B	0.421	0.494	0.773	1.767	1.253	1.087	0.977	0.993	1.759	1.891	1.115	1.444
C	1.354	1.371	1.398	1.537	2.451	2.156	1.306	1.248	1.166	1.470	0.807	1.463
D	1.476	1.592	1.293	1.214	0.915	1.034	1.245	1.209	1.414	1.531	0.320	0.405
E	1.751	1.617	1.677	1.787	1.123	1.057	1.516	1.567	1.606	1.665	1.387	1.443
F	1.149	1.232	1.326	1.347	0.287	0.277	0.370	0.379	0.347	1.407	0.724	0.919
G	1.406	1.262	1.091	1.034	0.983	0.952	0.109	0.113				
H					+	+	-	-				

Г

Слика 29. ELISA метода (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), серолошка техника на идентификација на вирусните инфекции

А. хомогенизатор на растително ткиво за подготовка на хомогенат за апликација во 96 канална плоча за идентификација на соодветниот вирус

Б. 96 канална плоча во која се нанесува растителниот хомогенат од различни инфицирани примероци, но од еден ист вид вирус

В. ELISA Washer (промивач на ELISA плочите)

Г. Споредба на 96 канална плоча со растителен хомогенат и со додаден супстрат за таложје на ферментот (позитивна реакција на специфичнире антитела и антителата, и жолто обојување кое се гледа со голо око)

Д. ELISA читач за отчитување на добиените резултати

Ѓ. Приказ на софтверски анализираните резултати од ELISA читачот

(Оригинални фотографии направени од истражувања во УНИЛАБ лабораторијата)

Дијагностиката на вирусите е поедноставена со развојот на серолошко ензимскиот имуно-атсорпционен тест (Enzyme Linked Immunosorbent Assay – ELISA). Оваа техника за првпат успешно била применета пред повеќе од 30 години. Денес методот ELISA е рутински метод за детекција на вирусите кај растенијата, кој се применува во многу лаборатории ширум светот, а на пазарот се достапни поголем број на комерцијални сетови и китови за детекција. Со примена на поликлонални антитела со стандардниот тест DAS – ELISA се детектираат сите можни соеви на вируси присутни во литература и на терен.

Првично опишан од Engvall & Perlmann (1971), методот овозможува анализа на протеински примероци имобилизирани во бунарчиња со микроплоча користејќи специфични антитела. ELISA обично се изведуваат во полистиренски плочи со 96 или 384 бунарчиња, кои пасивно ги врзуваат антителата и протеините. Токму ова врзување и имобилизирање на реагенсите го прави ELISA-методот лесен за дизајнирање и изведување. Имајќи ги реактантите на ELISA имобилизирани на површината на микроплочката, лесно се одвојува врзаниот од неврзан материјал за време на анализата. Оваа способност да се користат антитела со висок афинитет и да се измијат неспецифичните врзани материјали ја прави ELISA мокна алатка за мерење на специфични аналити во сурова подготовка.

Од оваа метода, постојат повеќе варијанти, како најчести **директна и индиректна ELISA** и други. Овие две методи се изведуваат на посебни имунолошки плочи, кои имаат по 96 бунарчиња (слика 30 и 31).

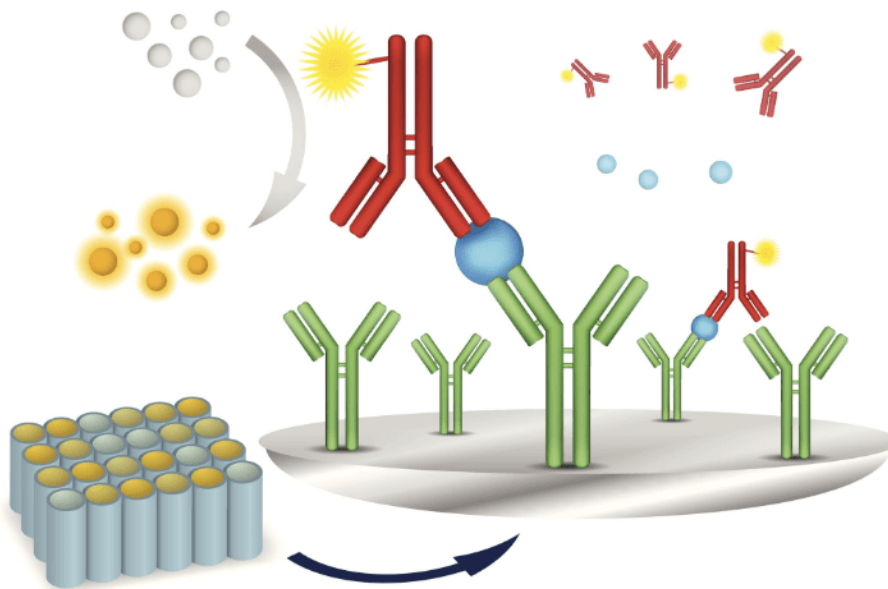
Многу варијанти на ELISA се развиени и користени во различни ситуации, сите тие зависат од истите основни елементи:

1. **Обложување/фаќање** – директна или индиректна имобилизација на антигени на површината на бунарчињата од полистирен микроплоча.
2. **Блокирање на плочата** – додавање на ирелевантен протеин или друга молекула за покривање на сите незаситени места за врзување на површината на бунарчињата на микроплочата.
3. **Сондирање/откривање** – инкубација со антиген-специфични антитела кои афинитетно се врзуваат за антигените.
4. **Мерење на сигналот** – откривање на сигналот генериран преку директна или секундарна ознака на специфичното антитело (слика 29Д).

Најчесто користени ензимски ознаки се: horseradish peroxidase (HRP) и alkaline phosphatase (AP). Голем избор на подлоги е комерцијално достапен за извршување на елиса метод со HRP- или AP-конјугат. Изборот на подлогата зависи од потребната осетливост на анализата и од инструментите достапни за откривање сигнал (спектрофотометар, флуорометар или луминометар).

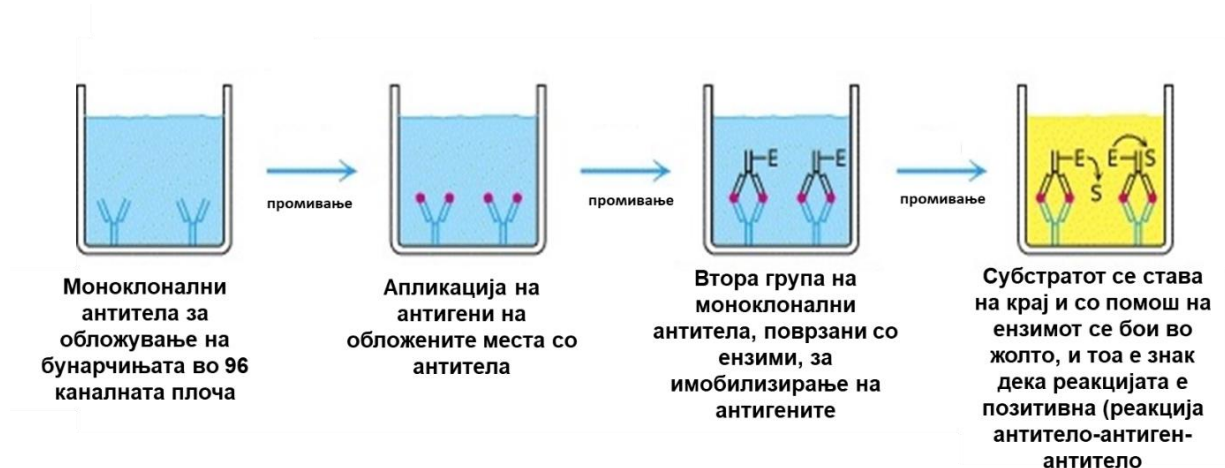
Постојат неколку формати кои се користат за ELISA. Тие спаѓаат во директни, индиректни или сендвич-метод. Клучниот чекор е имобилизација на антигенот од интерес, остварена или со директна атсорпција на плочата за анализа или индиректно преку антитело за заробување што било прикачено на плочата. Антигенот, потоа се открива или директно (означено примарно антитело) или индиректно (како што е означено секундарно антитело). Најшироко користен формат за ELISA-анализа е сендвич ELISA-анализата, која индиректно го имобилизира и индиректно го детектира присуството на целниот антиген. Овој тип на анализа на фаќање се нарекува анализа „сендвич“ бидејќи аналитот што треба да се мери е врзан помеѓу две примарни антитела, при што секое детектира различен епитоп на антигенот – антителото за заробување и антителото за откривање. Форматот за сендвич ELISA е многу користен поради неговата осетливост и специфичност (Nemeth, 1994) (слика 31).

Доколку антигените од пробите што ги испитуваме стапиле во реакција со специфичните антитела и антителата поврзани со ферментот, во тој случај ќе се појави интензивно обојување во бунарчињата и обратно. Сето ова може да го проследиме со голо око, но за валидност на резултатите се користи и ELISA читач (слика 29Д). Со оваа метода можат да се докажат и вируси со многу ниска концентрација (1-10 ng/ml), како на пример вирусите кај дрвенестите овошни видови и кај виновата лоза (слика 30).



Слика 30. Приказ на сендвич ензиматската реакција на поврзување на антитело со антигени (директна ELISA)

(<https://www.sepmag.eu/blog/sandwich-elisa>)



Слика 31. Принцип на сендвич ELISA техника, антитело-антиген-антитело

(адаптирано од https://microbiologynotes.com/elisa-principle-types-and-applications/#google_vignette)

Освен серолошкиот метод на идентификација на вирусите, со интензивниот развој на молекуларната биологија еден од масовно користените методи за одвојување на нуклетинските киселини по големина е гел-електрофорезата. Вироидите, кои имаат геноми помали од 1 kb, можат да се идентификуваат со акриламидна гел електрофореза, додека вирусите со геном помал од 10 kb на агарозен гел.

Развојот и примената на молекуларните методи за детекција на патогени значително ја промениле дијагнозата и контролата на растителните болести, вклучувајќи ја и растителната вирусологија. Потполна карактеризација на видовите на вируси, денес е можна само со примена на молекуларните методи.

Откривањето на полимеразната верижна реакција на удвојување на геномската секвенца (Polymerase Chain Reaction - PCR), довело до значаен напредок во детекцијата и карактеризацијата на патогените, па овој метод станал стандард во молекуларната детекција на бројни патогени.

Kary Mullis во 1983 г. ја утврдил можноста за верижна реакција за намножување на молекулите на ДНК, и во 1993 г. добил Нобелова награда за хемија, при што PCR-методот станал централна техника во биохемијата и молекуларната биологија (https://en.wikipedia.org/wiki/Kary_Mullis).

После изворниот опис на PCR-методот, развиени се нејзини бројни модификации. Еден од најважните методи е реверзната транскрипција и проследен со полимеразна реакција (Reverse Transcription PCR – RT - PCR) (Roberts et al., 2000).

Вирусот на шарка кај сливата е еден од првите растителни патогени на кој е применет RT – PCR-методот во почетокот на 1990. Првиот опишан сет прајмери P1 – P2 со целна секвенца во рамки на С терминалниот регион на генот за протеинот на обвивката и денес е во широка примена и се наоѓа во сите препорачани протоколи за детекција на PPV (Matic et al., 2005).

Колку за споредба, се развивале и бројни протоколи за екстракција на RNA од различен тип на растителен материјал (лисја, цветови, плодови, кора од гранки). Осетлива техника која е развиена за да се надмине проблемот на инхибиторот на PCR-реакцијата и за да се зголеми нејзината осетливост е Immunocapture RT – PCR (IC – RT - PCR). IC – RT – PCR е околу 2 000 пати поосетлив метод во однос на ELISA-тестот, а околу 25 пати поосетлива во однос на RT – PCR-методот (Roberts et al., 2000).

После тоа се развивале и други модификации на PCR-методот, сè со цел да се зголеми неговата осетливост и да се намалат можностите за контаминација: heminested – PCR, PCR-ELISA, nested-PCR во иста туба, Print-capture PCR, Co-PCR и Real-time RT-PCR (Roberts et al., 2000).

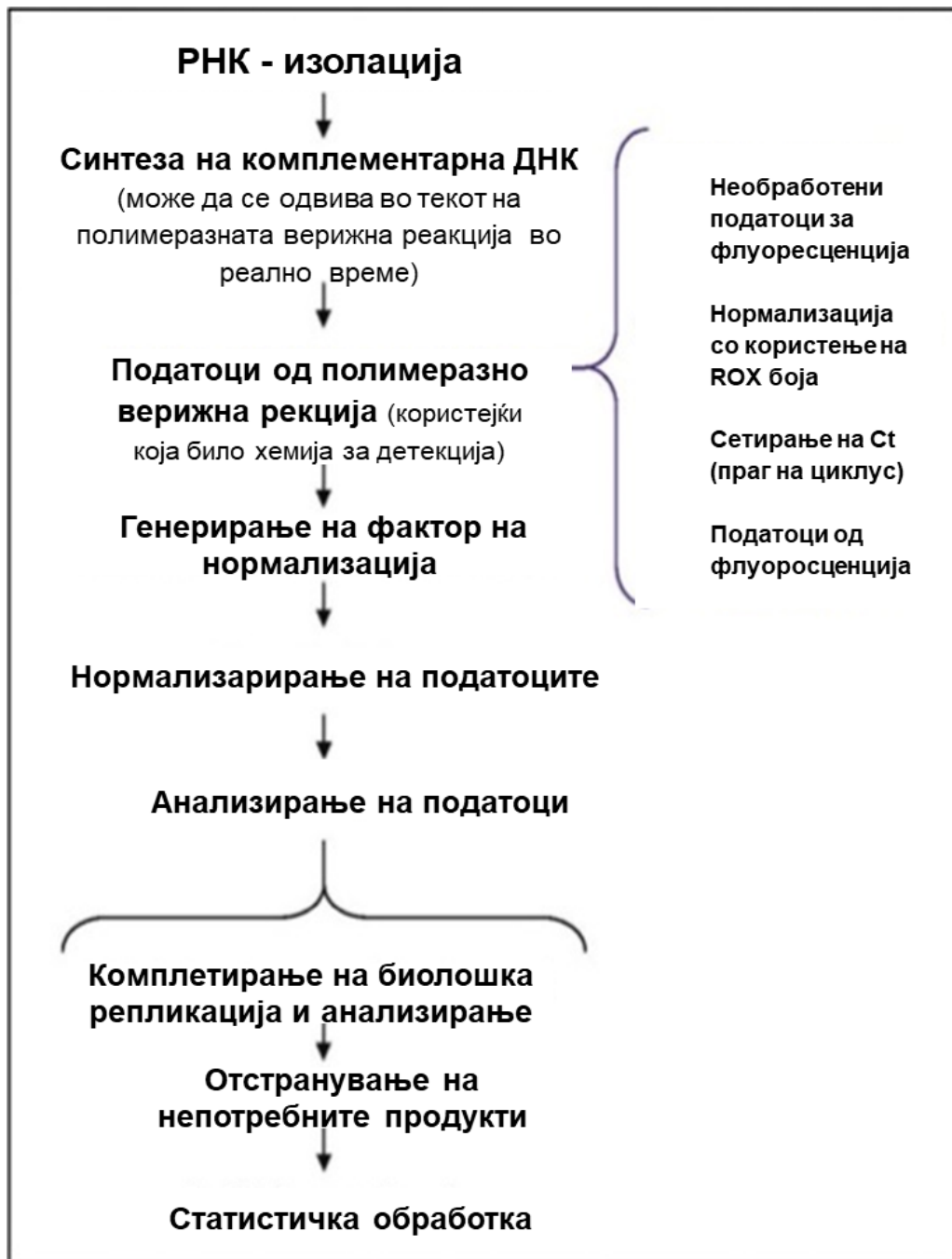
Методот на избор за квантификација на нуклеинска киселина (ДНК или РНК) во сите области на молекуларната биологија е полимеразно верижна реакција во реално време или квантитативен PCR (qPCR) метод (Ioanna et al., 2018).

Квантитативниот PCR-метод е технологија „златен стандард“ за квантифицирање на нуклеинските киселини и уште од првиот извештај опишувајќи го откривање на PCR во реално време во 1993 година, неговата употреба е експоненцијално зголемена. Поновите технолошки достигнувања го прошируваат опсегот на апликации, почнувајќи од детекција на топење со висока резолуција до дигитален PCR. Во денешно време, тоа е многу достапна техника, за да се постигне робусна и сигурна анализа.

Името на методот произлегува од фактот дека амплификација на ДНК со полимеразна верижна реакција (PCR) се следи во реално време. Тоа е квантитативен метод за разлика од конвенционалниот PCR, што значи дека овозможува утврдување на точни количини (релативна или апсолутна) на амплифицирана ДНК во примероците. Спротивно на тоа, амплифициранта ДНК може да се открие само откако ќе се изврши амплификација (откривање на крајна точка) во конвенционален PCR (Ioanna et al., 2018).

Освен ДНК, може да се користи и РНК со методот на полимеразно верижна реакција во реално време. Во овој случај, РНК треба обратно да се конвертира во ДНК (исто така наречен комплементарна ДНК или cDNA) пред да се амплифицира со PCR во реално време. Постои поим за овој комбиниран метод: реверзна транскрипција во реално време PCR или скратено qRT-PCR (понекогаш RT-qPCR).

Општите чекори извршени за време на експериментот со PCR во реално време, од изолација на РНК до анализа на податоци, се наведени на слика 32. Со овој преглед се обезбедува преглед на многу аспекти на PCR во реално време, истакнувајќи ја теоријата на PCR, методите за квантификација и модели, нормализација на податоците, видови на хемија за откривање и причини за варијација.



Слика 32. Чекори извршени при мерење на експресија на гени со користење на PCR во реално време

PCR е метод каде што ензим (термостабилна ДНК-полимераза, првично изолиран во шеесеттите од бактеријата *Thermus aquaticus*, кој живее во жешките езера на паркот Јелоустоун, САД) амплифицира краток специфичен дел од таргетот ДНК (ампликон) во циклуси. Во секој циклус, бројот на кратки специфични делови на ДНК е двојно зголемен, што доведува до експоненцијално засилување на целите.

Во qPCR се случува истата постапка, но со две големи разлики: прво, засилената ДНК е флуоресцентно обележана (обично со флуоресцентни бои базирани на цијанин) и второ, количината на флуоресценција ослободена при амплификација е директно пропорционална со количината на амплифициранта ДНК. Флуоресценцијата се следи во текот на целиот процес на PCR (заедно во сите 30 до 45 циклуси). Колку е поголем почетниот број на ДНК-молекули во примерокот, толку побрзо ќе се зголеми флуоресценцијата за време на циклусите на PCR (слика 33). Со други зборови, ако примерокот содржи повеќе цели, флуоресценцијата ќе се открие во претходните циклуси. Циклусот во кој може да се открие флуоресценција се нарекува квантитативен циклус (кратко Cq) и е основен резултат на qPCR: пониските вредности на Cq значат поголеми почетни броеви на копирање на таргетот. Ова е основниот принцип на квантитативниот пристап што го обезбедува PCR во реално време (Klarik & Ricchi, 2017).

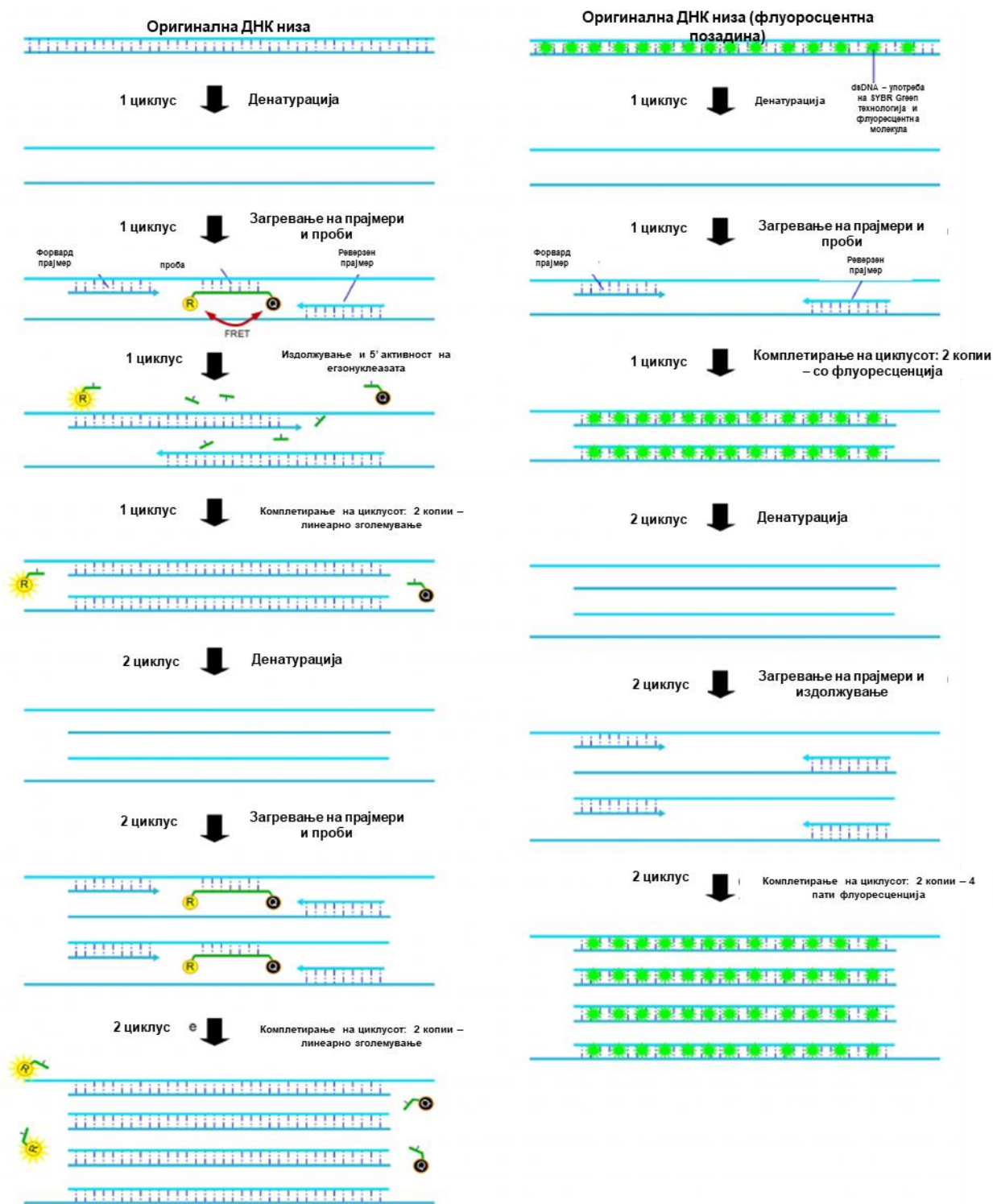
Постојат неколку пристапи со кои се добиваат вредностите на Cq (повик на Cq), параметрите на кривините за засилување што треба редовно да ги проверуваме, начините на преведување на вредностите на Cq во апсолутни или релативни броеви на копија на генскиот израз, итн.

Постојат неколку начини на кои флуоресцентно е означена засилената ДНК (позната и како „хеми на qPCR“). Сите имаат едно нешто заедничко: тие произведуваат флуоресцентен сигнал за време на реакцијата на PCR, што е квантитативно и директно пропорционално на почетната количина на ДНК (Barbara et al., 1995).

Развиената RT-qPCR-анализа претставува корисна алатка за која можат да се применат епидемиолошки студии на растителните вируси, скрининг на растителни генотипови за отпорност на вируси, студии за интеракции на растенија-вирус, фитосанитарна контрола, како и за рутинско тестирање на растителен материјал во шемите за сертификација на вирусите.

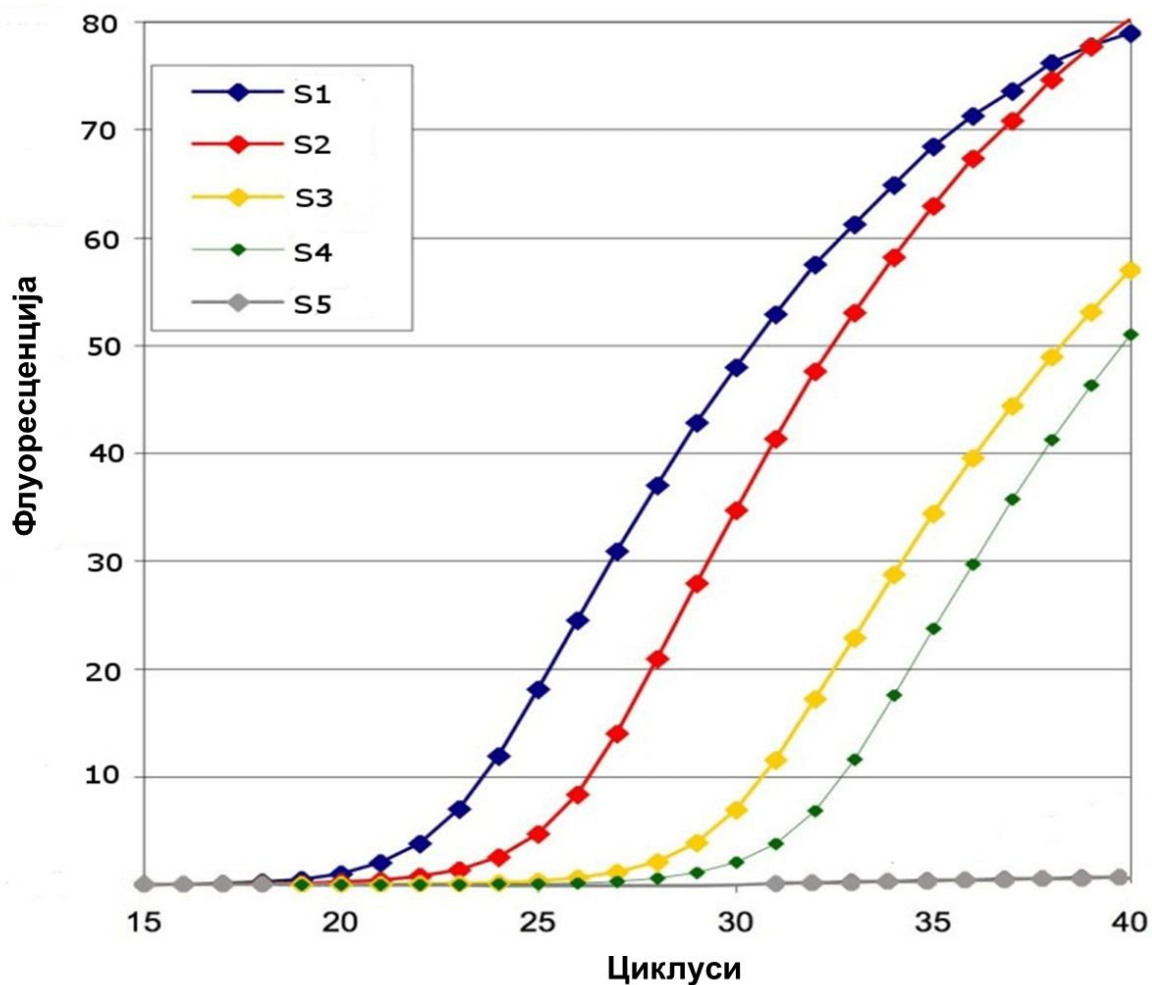
RT-qPCR-анализа покажува широк опсег на детекција што ги покрива сите познати соеви на растителните вируси, и во исто време е високо осетлива за откривање на низок број на вирусни молекули, односно детекција на вирусот во траги. Покрај тоа, употребата на TaqMan технологијата овозможува иден развој на мултиплекс PCR-анализи во реално време за истовремено откривање на важни вирусни патогени. Затоа развиената RT-qPCR-анализа претставува корисна алатка што може да се примени во епидемиолошки студии на растителните видови, скрининг на растителни генотипови за отпорност на вируси, студии за интеракции на растенија-вирус, фитосанитарна контрола, како и за рутинско тестирање на растителен материјал за сертификација и валидација на видовите *Prunus*.

ELISA-методот најчесто се користи како скрининг метод за голем број примероци, а потоа се употребува PCR-методот за валидација на ELISA позитивните примероци.



Слика 33. qPCR амплификација (првите два циклуса) како што се случува во PCR-тубичката (Постојат различни варијанти на сигнализирачки молекули qPCR (исто така наречени хемии) кои имаат малку поинакви начини на обележување на флуоресценција)
(адаптирано од <https://biosistemika.com/blog/qpcr-technology-basics/>)

Прикажани се двата најчести принципа. На левата страна е прикажана варијанта од 5'-егзонуклеаза која користи механизам FRET (трансфер на енергија со резонанца на флуоресценција), каде што флуоресценцијата на репортер флуорофор (R) се пренесува во гаснење (Q) и не се емитува секогаш кога молекулите на репортерот и гаснатот се во близина (на пр., TaqMan). Кога двајцата се дислоцираат (кога сондата ќе се отстрани со 5'-егзонуклеаза активност на TaqDNA полимераза за време на издолжување на PCR), молекулата на известувачот слободно испушта флуоресценција што потоа може да се открие. На десната страна, претставена е варијанта на qPCR што користи интеркалирачки флуорофор (на пример, SYBR Green). Се користат специјални бои за интеркалација што силно ја зголемуваат емисијата на флуоресценција секогаш кога тие се интеркалираат во dsDNA.



Слика 34. Амплификациони криви од пет примероци (S1 до S5) (Додека ДНК во секој примерок се засилува со секој циклус, флуоресценцијата се зголемува. Во примерот погоре, примерокот S1 содржи најголем почетен број на целната ДНК, што резултира со најбрзо зголемување на флуоресценцијата. Примерокот S4 содржи најмал почетен број на таргетираните молекули на ДНК, додека S5 не содржи никакви.)
(адаптирано од <https://biosistemika.com/blog/qpcr-technology-basics/>)

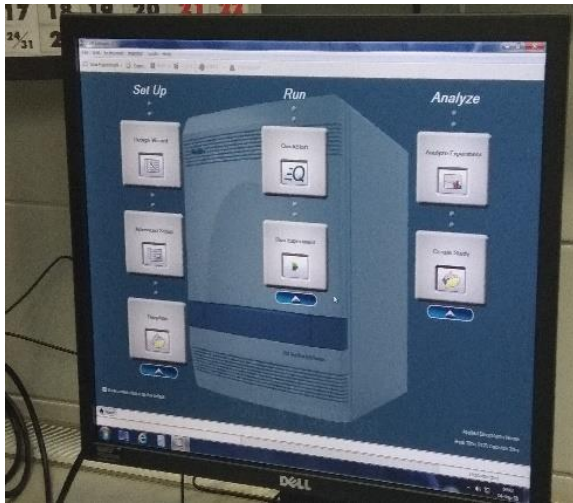
Поради своите моќни предности, qPCR има широк спектар на апликации. Методот постои доволно долго, така што истражувачката заедница ја докажала неговата сигурност и робусност.

Најочигледна е употребата на qPCR во молекуларна дијагностика, каде што полека ги заменува конвенционалните методи. Се користи за откривање, идентификување и квантифицирање на микроорганизми што предизвикуваат болести (бактерии, фитоплазми, вируси и габи) (слика 35). Со qPCR методот се намалува контаминацијата и погрешните резултати. Исто така, дозволува големи количини на примероци да бидат обработени за помалку време (до 384, па дури и 1 536 реакции) и така се покажа како незаменлив метод во дијагностичките лаборатории. Сепак, треба да се забележи дека методот открива само присуство на ДНК или РНК на микроорганизам и не ја пријавува неговата одржливост. Како резултат на тоа, понекогаш заедно со него сè уште се потребни конвенционални микробиолошки техники.

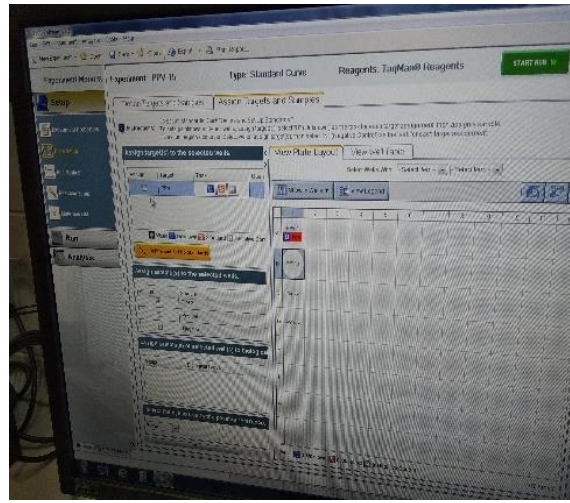
qPCR, исто така, се користи за откривање и квантифицирање на генетски модифицирани организми или за извршување генотипизација. Ова значи дека може да се детектираат различни алели од ист ген или поединечни нуклеотидни полиморфизми (SNP) што можат да се користат како генетски дијагностички или прогностички маркери за одредени болести (слика 36 а,б,в).



Слика 35. Изглед на qPCR за идентификување и квантифицирање на микроорганизми што предизвикуваат болести од бактериска, фитоплазматска, вирусна и габна природа) (оригинална фотографија)



а



б



в

Слика 36. Софтвер за поставување и анализа на резултатите во qPCR
а. стартување на софтверот
б. поставување на методот на работа/оптимизација во зависност од видот (сојот) на вирусот
в. принцип на примена на комерцијални китови за калибрација на qPCR апаратот (оригинални фотографии)

Многу важна област на примена е претставена со студии за изразување гени што ни помагаат да ги разбереме биолошките процеси во различни области на биологија, микробиологија, медицина и други науки. Многу корисен е скрининг на генетски израз на експресија со ДНК-микрорези, проследен со валидација на резултатите со qPCR. ДНК-микронизите се многу моќен метод само за себе, но тие се помалку осетливи и сепак бараат валидација (Kim et al., 2008).



ПОГЛАВЈЕ 5. РАЗМНОЖУВАЊЕ НА ВИРУСИТЕ

- 5.1. Општи особини за размножување на растителните вируси**
- 5.2. Механизмот на репликација на вирусите**
- 5.3. Механизам на размножување кај вирусите со ДНК геном**

ПОГЛАВЈЕ 5. РАЗМНОЖУВАЊЕ НА ВИРУСИТЕ

Според начинот на размножување, растителните вируси значително се разликуваат од сите останати групи на микроорганизми. Една од основните карактеристики на вирусите во текот на нивното размножување е нивното разградување. Простите вируси кои содржат едноспирална РНК, се разградуваат целосно, а сложените вируси, што содржат двоспирална РНК и рабдовирусите што имаат едноспирална ЕНК и липидна обвивка на капсидот, се разградуваат делумно. Разградените делови не влегуваат во состав на новите вирусни честици. Вирусната инфекција во целост ја активира инфицираната клетка да синтетизира нови вирусни честици.

Ослободената нуклеинска киселина од вирусот, во текот на репродукцијата служи како модел на кој се синтетизираат нови вирусни нуклеински киселини, што обезбедува постојано одржување на вирусот. Со својата генетска информација, вирусите ја насочуваат активноста на клетката во насока на нивна репродукција и на тој начин вирусите остваруваат посебен вид на паразитизам што се изедначува со нивната репродукција. Репродукцијата на вирусите се остварува единствено од клеточниот материјал, ферментите и енергијата, при што се користат механизмите на клеточното пренесување на аминокиселините, како и клеточните рибозоми за синтеза на вирусната белковина. Општа карактеристика на размножувањето (удвојувањето) на вирусите е нивната целосна автономност во репродукцијата на вирусните честици. Таа автономност се остварува исклучиво под дејство на вирусниот геном и е независна од генетските насочувања на клетката од домаќинот. На оваа особина се базира генетската активност на вирусите, која обезбедува наследување и варијабилност на одделните видови вируси.

5.1. Општи особини за размножување на растителните вируси

Растителните вируси како зависни микроорганизми од активноста на клетката домаќин, во процесот на своето размножување вклучуваат неколку задолжителни компоненти:

- **Компоненти потребни за синтеза на вирусот** – вирусите користат аминокиселини и нуклеотиди синтетизирани од клеточниот метаболизам на домаќинот, соединенија кои се неопходни за градба на вирусните протеини и нуклеински киселини.
- **Енергија** – енергијата потребна за полимеризација (синтеза) на вирусните протеини и вирусната нуклеинска киселина, главно се обезбедува од клетката домаќин. Потребната енергија е во форма на нуклеозид трифосфат.
- **Протеинска синтеза** – вирусите го користат клеточниот систем за синтеза на протеини, контролирајќи го со дел од својот геном (вирусна mRNA).
- **Синтеза на нуклеинска киселина** – скоро сите растителни вируси во својата вирална нуклеинска киселина имаат код одговорен за ензимите вклучени во синтеза на нуклеинските киселини. Сепак, постојат и случаи во кои виралниот геном не придонесува за синтеза на сите протеини кои се вклучени во репликацијата на нуклеинските киселини (Русевски и Кузмановска, 2013).

Според **начинот на репродукција**, вирусите значително се разликуваат по следниве одлики:

- (1) **Разградување на честичките во текот на репродукцијата**
(вирусите со проста градба се разградуваат во потполност, додека вирусите со сложена градба се разградуваат делумно).
- (2) **Разградените делови не влегуваат во состав на новите честички**
(новите честички се синтетизираат во целост со активност на инфицираната клетка, тоа е процес кој е директно насочен од вирусната инфекција, а во текот на репродукцијата, ослободената нуклеинска киселина служи како модел за синтеза на нови вирусни честички).
- (3) **Репродукцијата се изедначува со паразитизмот.**
- (4) **Репродукцијата се одвива исклучиво со клеточните материјали, ферменти и енергија.**
- (5) **Потполна автономност во репродукцијата**
(се базира исклучиво на геномот на вирусот и е основа за наследувањето и варијабилноста внатре во видот на вирусот) (Шутић, 1980).

5.2. Механизмот на репликација на вирусите

Механизмот на репликација на вирусите е различен и главно зависи од градбата и составот на нивниот геном (нуклеинската киселина). Постојат следниве чекори во **механизмот на размножување кај вируси со РНК геном**:

(а) **Внесување на вирусот во клетката.**

(б) **Декапсикација или депротеинизација** – разлагање на протеинската обвивка, процес кој се одвива под дејство на клеточните ферменти. Се смета дека тој се случува многу брзо, односно неколку минути после инфекцијата. Во оваа фаза доаѓа до ослободување на нуклеинската киселина.

(в) **Ослободената нуклеинска киселина** е родителска инфективна спирала, која уште се нарекува и позитивна спирала.

(г) **Создавање на фермент синтетеза (полимераза, репликаза)** – под дејство на ослободената нуклеинска киселина, и создадениот фермент е потребен за размножување на родителската нуклеинска киселина. Овој фермент е строго специфичен и различен за поедини видови вируси.

(д) **Негативна нуклеинска киселина** – под дејство на синтетазата по должина на позитивната нуклеинска киселина се создава една нова негативна комплементарна нуклеинска киселина. Создадената негативна нуклеинска киселина не е инфективна, но служи како калап за да може со помош на истиот фермент непрекинато да се синтетизираат нови родителски спирали.

(ѓ) **Завршно образување на вирусна честичка** – на оваа фаза и претходи синтеза на протеински подединици во рибозомите со помош на iRNA (информационата РНК) и tRNA (транспортната РНК). iRNA со својата генетска шифра го определува распоредот (секвенцата) на аминокиселините кои ги градат протеинските подединици, а tRNA ги дешифрира пораките и ги донесува неопходните аминокиселини потребни за протеосинтезата. Потоа, следува процес на соединување на капсидот и соодветна поединечна (реплицирана) нуклеинска киселина во финалниот вирион.

(е) **Кај различни групи вируси, РНК се синтетизира на различни места** (пр., вирусот на мозаик на тутунот (TMV) се синтетизира во јадрото, посебно во јадренцето, додека други групи на вируси РНК може да се синтетизира во цитоплазмата или во митохондриите).

(ж) **Синтезата на нуклеинските киселини и протеинот**, просторно и временски се одвиваат одвоено, со покасно спојување во целосна честичка, најчесто во цитоплазмата или јадренцето.

5.3. Механизам на размножување кај вирусите со ДНК геном

Најголем број од растителните вируси се РНК вируси, но постојат и ДНК вируси, за кои треба да се напомене механизмот на размножувањето, кои се одвиваат во неколку фази (слика 37):

(а) **Внесување на вирусот во клетките.**

(б) **Декапсикација** (под дејство на клеточните ферменти) и ослободување на нуклеинските киселини.

(в) Кај вирусите со едноспирална ДНК, ослободената нуклеинска киселина е родителска инфективна спирала, која уште се нарекува и **позитивна (+) спирала**.

(г) **Создавање на фермент синтетеза (полимераза, репликаза)** кој е потребен за размножување на родителската нуклеинска киселина. Овој фермент е строго специфичен и различен за различни видови вируси.

(д) Под дејство на синтетезата, кај вирусите со едноспирална ДНК долж позитивната нуклеинска киселина се создава калап на една **нова комплементарна нуклеинска киселина**. Негативната нуклеинска киселина не е инфективна, и служи само како калап за да може непрекинато да се синтетизираат нови родителски спирали.

(е) Кај вирусите со **двојноспирален ДНК геном**, настанува раздвојување на базите, после што се добиваат слободни спирали кои со помош на полимеразата синтетизираат нови ДНК молекули.

(е) За синтеза на протеинот, ДНК ензимски се транскрибира (транскрипција – препишување) во информациона РНК (iRNA), потоа со помош на транспортната РНК (tRNA) се дешифрираат пораките и се донесуваат потребните аминокиселини за процесот на протеосинтезата. При оваа промена ДНК со базите А-Т и Г-Т се преобразува во РНК со базите А-У и Г-У, а целиот процес се одвива под дејство на ферментациски активности. Потоа следи процес на соединување на капсидот со соодветната поединечна (реплицирана) нуклеинска киселина во финален вирион (Пејчиновски и Митрев, 2007а).

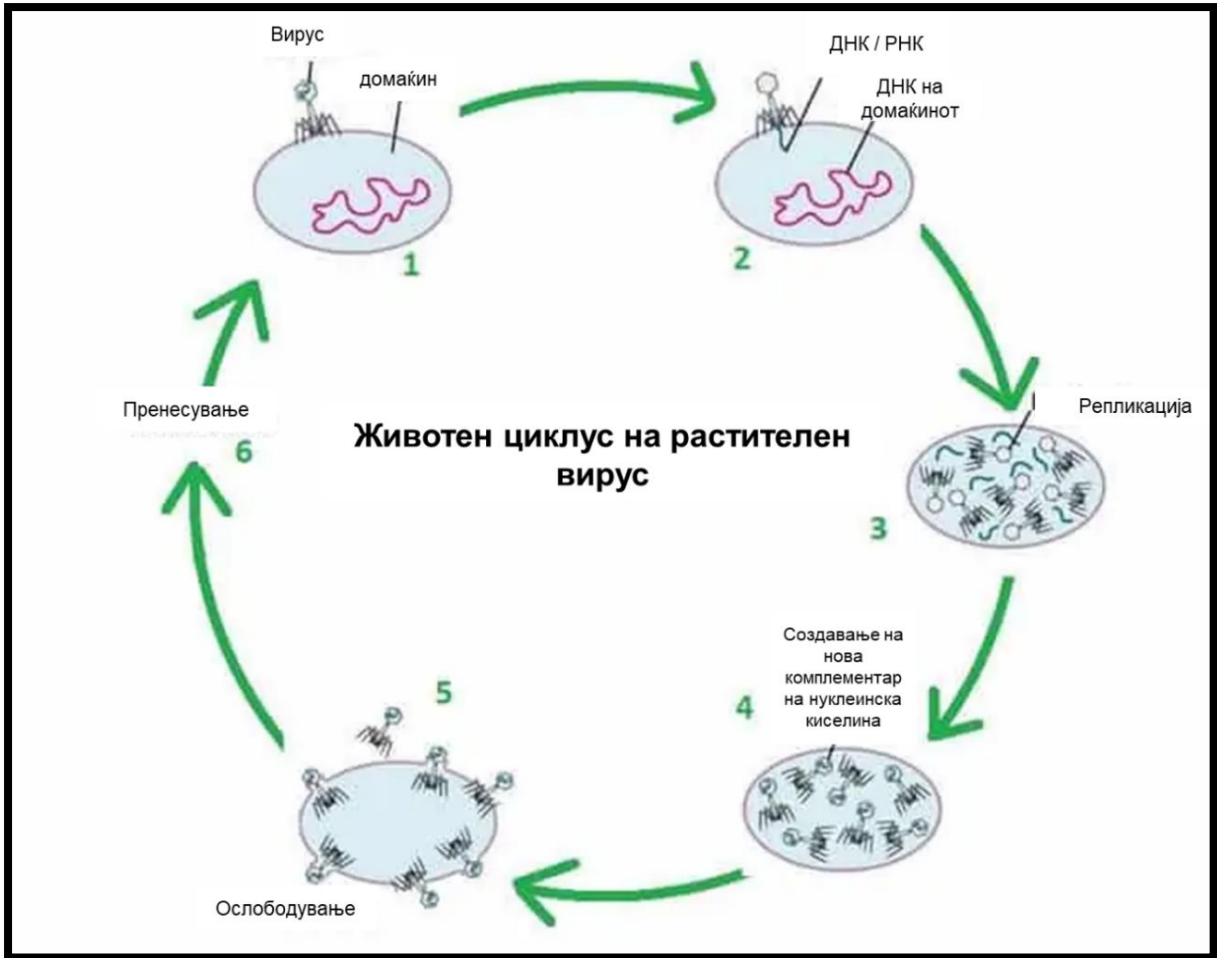
Нуклеинската киселина својата геномска улога во репродукцијата на вирусите може да ја изрази на два начина:

(1) Создавање на iRNA (процес на препишување – транскрипција);

(2) iRNA по пат на транслација со помош на tRNA во рибозомите се синтетизираат протеински поединици.

Во однос на генетските особини, вирусите покажуваат: наследување и варијабилност. Носител на овие особини кај растителните вируси, е нуклеинската киселина на вирусот.

Наследувањето на особините кај растителните вируси настанува преку пренесување на својствата на родителите на своите потомци, со што се овозможува одржување на видот на вирусот. Наследувањето е процес кој се одвива преку удвојување (репликација) на нуклеинската киселина во тек на размножување на вирусот, при што новонастанатата нуклеинска киселина ја носи истата генетска информација како и родителската.



Слика 37. Животен циклус на растителен вирус претставен во чекори

(Приврзаност - вирусот се прикачува на надворешната страна на растителната клетка;

Пенетрација - протеинот ја турка нишката на нуклеинската киселина во растителната клетка;

Репликација - нуклеинската киселина на вирусот ја користи ДНК на растителната клетка за да направи многу нови нишки на нуклеинска киселина и протеински обвивки;

Создавање на нови копии - нуклеинска киселина и протеин се собираат во милиони нови копии на вируси;

Ослободување - вирусите ја напуштаат клетката - во оваа фаза клетката е нормално мртва и пука и ги ослободува вирусите;

Пренесување - вирусите се движат со помош на вектор до нови клетки за да се заразат.)

(адаптирано од <https://cropnuts.com/an-introduction-to-plant-viruses/>)

Во клетките на домаќинот, гените ја одредуваат (кодираат) синтезата на новите вирусни честички, нивната градба и функциите. Генетската информација ги одредува основните функции на вирусот – размножувањето и наследувањето. Намножувањето на вирусите во клетките од домаќинот е тесно поврзана со нивниот паразитизам, за што е важна и единствено одговорна нуклеинската киселина. Гените кај есРНК се состојат од одреден број на нуклеотиди, а кај дсРНК од одреден број парови од нуклеотиди (Пејчиновски и Митрев, 2007а).

За секоја активност на вирусите постојат посебни гени. Пр., кај вирусот на мозаик на тутунот, постои посебен ген одговорен за некрозните локални дамки кај тутунот. Кај овој вирус било утврдено и дека гените што ја регулираат синтезата на белковините, ги одредуваат и симптомите на болеста. Кај сложените вируси пак, составени од два или повеќе одвоени делови, постои меѓусебна зависност во генетската активност на нуклеинските киселини што се наоѓаат во тие делови.

Варијабилноста кај вирусите се однесува на промените во градбата и функцијата на вирусните честички. Овие особини се пренесуваат на потомството, а потоа варираат во потомството, и на тој начин вирусите слично на клеточните организми, се одржуваат со можност за настанување на нови облици. Промените кај вирусите можат да бидат: фенотипски и генотипски. Фенотипските промени настануваат во паразитската активност на вирусите, што се однесуваат на различни симптоми во растението домаќин. Генотипските промени пак, се однесуваат на промени во нуклеинската киселина, која е геномот на вирусот. Овие промени, како и кај клеточните организми се нарекуваат мутации, а добиените нови облици се мутанти или генетски варијанти на вирусите.

Некои најчести директни и индиректни штети кај растителните вирусни инфекции се:

(1) Намалување на растот

- намалување на приносот вклучувајќи инфекција без симптоми;
- неуспех на културата.

(2) Намалување на енергијата

- зголемена чувствителност на мраз и суша;
- зголемување на предиспозициите за напад од други патогени и штетници.

(3) Намалување на пазарната вредност и квалитетот

- визуелни промени: големина, облик и боја;
- намалување на квалитетот;
- намалена привлечност на потрошувачите: вкус, текстура и состав;
- намалена способност за размножување.

(4) Трошоците за обид за одржување на здравјето на културите

- Хигиена и заштита на растенијата вклучувајќи контрола на векторите;
- Производство на безвирусен саден материјал;
- Проверка на растителниот материјал при увоз/извоз (карантинска програма);
- Програма за еридикативни мерки за заштита;
- Одгледување на отпорни сорти;
- Наука, истражување и едукација. (Hull, 2014).

ПОГЛАВЈЕ 6. ИНФЕКЦИЈА И ШИРЕЊЕ НА ВИРУСИТЕ ВО РАСТИТЕЛНИТЕ КЛЕТКИ ДОМАЌИНИ

- 6.1. Растенија домаќини на вирусите**
- 6.2. Ширење на вирусите во растенијата**
- 6.3. Извори на вирусни зарази**



ПОГЛАВЈЕ 6. ИНФЕКЦИЈА И ШИРЕЊЕ НА ВИРУСИТЕ ВО РАСТИТЕЛНИТЕ КЛЕТКИ ДОМАЌИНИ

6.1. Растенија домаќини на вирусите

Растителната вирусологија и покрај современите молекуларни методи на идентификација, сè уште е во фаза на собирање на доволно податоци. Најбројни домаќини на вирусите во растителната вирусологија се претставниците од цветниците (*Angiospermae*).

Вирусите се способни да ги инфицираат сите видови растенија (култивирани и диви растенија). За некои вируси спектарот на домаќини е многу мал, додека други вируси имаат широк спектар на растенија-домаќини. Пр., вирусот на тристежа на цитрусите (*Citrus tristeza virus* – CTV), се размножува и ги инфицира само видовите од родот *Citrus*. Друга група вируси, како на пр., вирус на мозаикот на краставицата (*Cucumber mosaic virus*), вирус на бронзена некроза на домотот (*Tomato spotted wilt tospovirus* - TSWV), вирус на мозаикот на тутунот (*Tobacco mosaic tobamovirus* – TMV), жолта спеченост на јачменот (*Barley yellow dwarf luteovirus* – BYDV), можат да се размножуваат во стотици растителни домаќини, кои припаѓаат на голем број ботанички родови и фамилии.

Имајќи ги предвид културите кои се одгледуваат на нашите плодни површини, особено значајни во исхраната на луѓето како што се: ориз, пченица, пченка, компир, грав, домот, пиперка, краставица, појавата на економски значајните вируси е од забележителен карактер во производството и квалитетот на добиените производи. Така на пр., вирусот на шарка на сливата (*Plum pox potyvirus*, PPV) кај нас најчесто се појавува кај модрата слива и кај кајсијата, праската, поретко кај вишната и црешата, предизвикувајќи значителни економски штети. Вирусот на заразна дегенерација на виновата лоза (*Grapevine fanleaf nepovirus*, GVFLV) и вирусот на свиткување на листовите кај виновата лоза (*Grapevine leafroll-associated closteroviruses*, GIRA), се економски многу значајни вируси кај виновата лоза кои ја намалуваат животоспособноста на виновата лоза и го намалуваат приносот и квалитетот на грозјето.

*

За разлика од цветниците, останатите растенија се ретки домаќини на вирусите. Пр., голосемениците (*Gymnospermae*): *Pinus nigra*, *Picea excelsa*, *Pinus monticola*, се домаќини на мал број вируси, или се експериментални домаќини на вируси кои се инфективни за цветниците.

Слично и папратите (*Pteridophyta*) и мововите (*Bryophyta*), се уште поретки домаќини на вирусите.

*

Алгите, габите и бактериите, можат, исто така, да бидат домаќини на вирусите. Зелената алга (*Chara corallina*) е домаќин на *Chara corallina virus* – CCV (Further studies on *Chara corallina virus*. AntekSkotnicki^{ab} AdrianGibbs^{ab} Nicholas G.Wrigley^{ab} Virology 1976).

*

Габите (организми слични на растенијата), можат да бидат домаќини на голем број вируси, а некои габи можат да бидат и вектори на вирусите причинители на вирусни кај некои цветници.

*

Бактериите како нижи организми се најчести домаќини на вирусите. Вирусите кои ги инфицираат бактериите се нарекуваат бактериофаги или само фаги. Досега се опишани неколку стотици видови фаги. Нивното откривање е поврзано со англискиот бактериолог Twort кое датира од далечната 1915. Во своите истражувања, тој констатирал дека некои култури од бактерии се дезорганизираат, се разградуваат, стануваат стаклести и се „топат“. Подоцна, D’Heleге во 1917, открил болест кај бактериите која можела да се пренесува, а причинителот го нарекол бактериофаг. Со електронска микроскопија било откриено дека бактериофагите се со големина од 20 до 200 nm. Во многу случаи, детекцијата на соодветните бактериофаги е многу значајна во дијагностиката и идентификацијата на фитопатогените бактерии (Русевски и Кузмановска, 2013).

6.2. Ширење на вирусите во растенијата

Процесот на навлегување на вирусите во растителното ткиво е пасивен, од причина што вирусите немаат способност да создаваат ензими со кои ќе овозможат активно навлегување во растителната клетка. Познавањето на начинот на пренесување на вирусот е од големо значење за основните испитувања на карактеристиките на вирусот, но важно е и за методите и постапките на детерминација. Начинот на пренесување на вирусот има особено значајна улога при одредување на мерките за превенција и заштита од вирусните заболувања (Bagi et al., 2016).

Со внесувањето на вирусните честички во растителните клетки домаќини започнува процес кој се состои од неколку фази (слика 38):

(1) Инокулација на растителните клетки

Прва фаза откако вирусните честички ќе се внесат во цитоплазмата на осетливите клетки домаќини. Ова е фаза кога е обезбеден почеток на инфекцијата. Клетките од кои се изградени ткивата каде што се случила првата инокулација се места познати како **примарна инфекција**. После размножувањето во примарните клетки, растителните вируси се пренесуваат и во други клетки каде настануваат нови процеси на инфекција (односно настанува реликација или удвојување на вирусните честички), и тие растителни клетки ја претставуваат зоната на **секундарната инфекција**.

(2) Процес на размножување

Брзината на овој процес, како и концентрацијата на вирусот во клетките, зависи од повеќе фактори како видот на вирусот, домаќинот, надворешните услови кои особено се важни за развојот на растението домаќин.

Ширењето на вирусите во незаразените делови на растенијата започнува во текот на размножувањето и се одвива на два начина: **интрацелуларно (меѓуклеточно) и васкуларно (садовно)**.

Растителните вируси немаат способност да се шират од една во друга клетка преку клеточниот ѕид. Во процесот на **меѓуклеточното ширење**, вирусите од местото на размножувањето, на пат кон инвазијата кон наредната растителна клетка, ги користат цитоскелетниот и мембранозниот систем на примарно инфицираните растителни клетки, со цел периферно придвижување кон плазмодезматските отвори. Отворите се со димензии од 20 до 200 nm, и овозможуваат, преку цитоплазматско кружно движење, меѓусебно поврзување на две соседни клетки и придвижување на комплетни вирусни честички или само нуклеински киселини.

Во процесот на меѓуклеточното ширење, важна улога имаат одредени протеини кои се вирусно кодирани, како: неструктурниот движечки протеин (movement) и структурниот (капсид – coat) протеин.

Улогата на движечкиот протеин е следнава:

- овозможува зголемување на димензијата на плазмодезматските отвори;
- се поврзуваат во нуклеопротеински комплекси со есRNA или есDNA<
- најважната улога – пренесување на поврзаните едноспирални нуклеински киселини во наредните клетки.

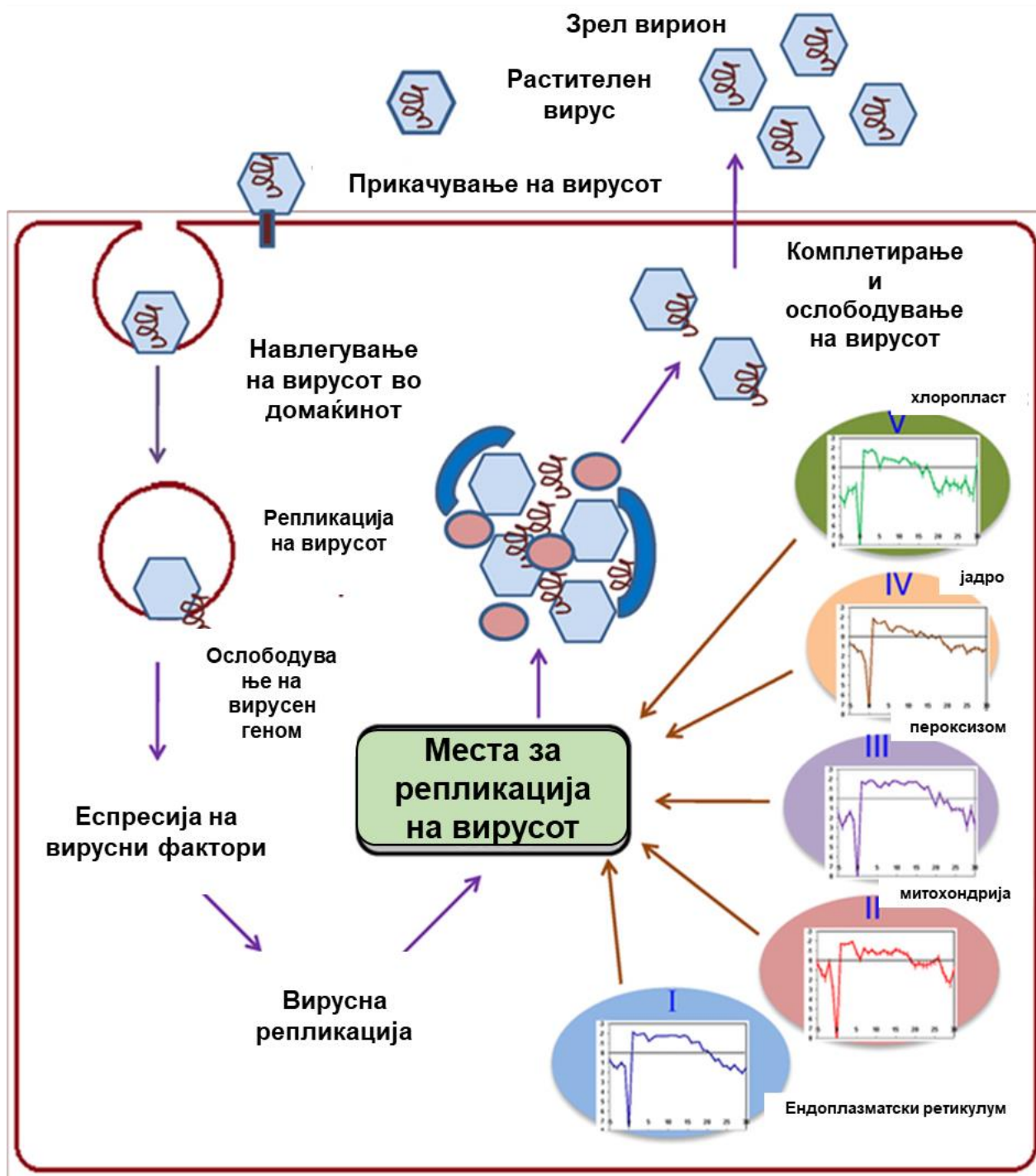
Меѓуклеточното ширење и пократко и поспоро е директно зависно од процесот на размножување.

Васкуларно (садовно) ширење е поврзано со транспорт на метаболити во спроводните ткива. Овој начин на ширење на вирусот во растенијата се одвива многу побрзо и на поголеми растојанија и предизвикува инфекција на целото растение. Во овој начин на ширење на вирионите, подеднакво учествуваат и флоемот (ситестниот дел) и ксилемот (садовниот дел). Споредбено, меѓу флоемот и ксилемот, флоемот претставува подобра средина за одржување и ширење на вирусите. Вирионите кои потекнуваат од примарно инфицираните листови, мигрираат во ткивото на флоемот и заедно со метаболитите се движат кон нови млади ткива, каде се повторува меѓуклеточното ширење. На крај, вирионите преку овој начин на ширење предизвикуваат системична зараза.

Од меѓуклеточна до системична инфекција, постојат пет различни последователни чекори:

- (1) **Движење на вирионите кон васкуларниот систем.** Во овој чекор вирионите поминуваат од мезофилните клетки во зоната на примарната инфекција, кон клетките на примарното заштитено ткиво на васкуларниот систем.
- (2) **Премин на вирионите од васкуларниот паренхим на примарното заштитно ткиво, кон придружните заштитни клетки.** Овој чекор на движење кај голем број на растителни вируси е потпомогнат од движечките протеини.
- (3) **Пенетрација на вирионите во ситестите клетки на примарно инокулираните листови.** Во овој чекор остварени се предуслови за движење на вирионите низ растението, и овој чекор е потпомогнат од движечките протеини. Кај поголем број од растенијата – домаќини, има **два структурни типа на флоем: екстерен** (од опачината на листот) кој транспортира метаболити надолу кон коренот и **интерен** (на лицето на листовите) кој транспортира метаболити нагоре кон горните листови;
- (4) **Движење на вирионите од флоемот кон новите паренхимски клетки домаќини.** Механизмот на овој чекор сè уште не е доволно проучен, но се знае дека е различен од претходниот процес на пенетрација на вирионите во клетките на флоемот.
- (5) **Движење од клетките на флоемот преку придружните заштитни клетки, васкуларниот паренхим кон мезофилот.**

Повеќето растителни вируси го применуваат структурниот протеин (капсидот) за ширење на поголеми растојанија (васкуларно ширење) (Шутић, 1980).



Слика 38. Различни места за репликација на вируси за растителни вируси (Во растенијата неколку органели служат како места за репликација на вирусите. Шемата нашироко ги категоризира овие места за репликација во ендоплазматичен ретикулум, митохондрии, пероксисоми, хлоропласти и јадро)

(адаптирано од https://www.researchgate.net/figure/Different-virus-replication-sites-for-plant-viruses-In-plants-several-organelles-serve_fig2_296626659)

6.3. Извори на вирусни зарази

Растителниот материјал е важен избор на зараза на други растенија со вирусна инфекција. Кога станува збор за растителен материјал, се мисли на саден и семенски материјал, плевелни растенија и самоникнати култивирани растенија.

Како постојан избор на зараза со вирусна инфекција се смета **вегетативниот растителен материјал**. Кај виновата лоза и овошните култури, извори на вирусна зараза можат да бидат: матични растенија за производство на вегетативни подлоги, како и матични растенија наменети за производство на питомки. Поради нивната повеќегодишна употреба, особено се траен извор на вирусна зараза.

Со спојување на вегетативните делови при процесот на калемење, се овозможува идеална трансмисија на вирусите, при што се добиваат садници кои претставуваат долготраен извор на вирусна зараза. Калемењето се смета за процес при кој забрзано се шират вирусите во овоштарството и лозарството, посебно вирусите кај јаболката, крушата, сливата, кајсијата како и во лозарството кај виновата лоза, преку заразена подлога или калем гранка, кои со спојувањето на допирната површина се образува калус (органиска поврзаност меѓу подлогата и калем гранката – компатибилност). На овој начин вирусот присутен во само еден дел (подлога или калем), лесно почнува да се шири и движи низ новоформираната садница.

Значаен извор на вирусна зараза се и вегетативните изданоци, кои често се користат како репроматеријал во овоштарството или хортикултурата. Сите ожилени резници, исто така претставуваат извор на вируси. Заразени матични растенија, се носители на вирусна инфекција и нов извор на зараза. Идентично, кај јагодите се ожилените столони. Поради сето ова споменато, вегетативниот саден материјал во овоштарството и лозарството (подлоги, питомки, садници, резници и изданоци), претставуваат многу богат и опасен извор на вирусни инфекции. Освен во овоштарството и лозарството, и во поледелството и градинарството ја имаме истата слика за пренесување на вирусната зараза преку вегетативниот саден материјал.

Од вегетативните растителни делови, како значајни извори на вирусни зарази, се и луковиците пр., кај кромидот (вирус на жолта спеченост кај кромидот *Onion yellow dwarf potyvirus* (OYDV)) и лукот (вирус на линиски мозаик кај лукот).

Во хортикултурата, редовен начин на размножување е вегетативниот, со користење на резници, лстари, бусенчиња, листови и др.

Семето, како генеративен растителен материјал, генерално е помалку осетливо на вирусни инфекции, за разлика од вегетативните делови. И покрај тоа што семето може да потекнува од системично инфицирано растение, сепак семето не е носител на вирусната инфекција. Во науката денес е познато дека само до 10% постои можност да се пренесува вирусната инфекција со семето. Заразеното семе може да биде многу силен извор на зараза. Во зависност од трајноста на семето, вирусната инфекција може да биде конзервирана подолг период. При самата сеидба, вирусната инфекција најрано се внесува во производството, а заразата започнува со самото проникнување (слика 39). Доколку на инфекцијата преку семето, дополнително позитивно влијание има некој дополнителен фактор, пр., како вектор, тогаш заразата може да достигне масовен карактер. Во зависност од растителниот вид, пренесувањето на вирусот со семето се движи од 1 до 100%.

Постојат два начина на пренесување на вирусите со семето:

- (1) **Површински (екстерен) начин** на пренесување на вирусите – вирусните честички се наоѓаат на површината од семето и овие честички можат многу лесно да бидат отстранети (делумно или целосно);

(2) Ембрионален (интерен / внатрешен) начин – ембрионот може да биде заразен или преку инфекцијата на гаметите, или како резултат на директна инвазија на вирионите после фертилизацијата.

Како најчести примери за пренесување на вирусите со семето се: вирусот на мозаикот на домотот (сој на вирус од групата на мозаик на тутунот) се пренесува со семето на домотот и во неконтролирана и проверена сеидбена сезона може целосно да го зафати расадот, а со тоа директно да влијае неповолно на производството на домотите. Семето на гравот често може да биде инфицирано со вирусот на обичен мозаик на гравот, а процентот на загуби се движи околу 50%. Овој вирус се пренесува со семето, но во текот на вегетационската сезона се пренесува на здрави растенија по механички пат или со лисни вошки, кои дополнително го зголемуваат процентот на инфекција (Kassanis & Govier, 1971; Wynn & Staples, 1981).

Поради интензивната светска размена на сменска роба, се зголемува ризикот од пренесување и внесување на растителните вируси со помош на семенскиот материјал од други држави, па и подалечни континенти. За да се спречи внесувањето на растителните вируси, издвоени и пропишани се карантински мерки и протоколи за преглед на семенскиот материјал при увоз/извоз.

Поленот е познат како многу редок начин на пренесување на вирусите во природата, особено кај *Ilarivirus* – пр., поленот кај јачменот може да биде преносител на вирусот на линискиот мозаик кај јачменот, кој во текот на опрашувањето предизвикува внатрешна зараза на семето и до 55% (Шутић, 1980).

Плевелите се важни извори на вирусната зараза, особено плевелната флора е заеднички домаќин на голем број растителни вируси. Плевелите (одредени групи) можат да бидат постојани и стабилни извори на растителни зарази, меѓутоа не само во фаза на вегетација, туку и со помош на семето. Повеќегодишните плевели се сметаат за резервоари на континуирана повеќегодишна зараза, која се поклопува со животниот век на плевелот.

Самоникнати растенија од претходните култури, се сериозен извор на вирусна инфекција, а особено се најопасни самоникнатите растенија чија вегетација се поклопува со одгледувањето на културните растенија од ист вид. Пр., луцерката може да претставува повеќегодишен извор на зараза (пр., на вирусот на мозаикот на луцерката, вирус на мозаикот на краставицата и др.).

Заразени растенија во склоп на одгледувана култура се најчест начин на пренесување на вирусите, затоа што сите растенија се развиваат континуирано и во ист временски период, па паралелно имаме здрави растенија и растенија кои се потенцијален извор на инокулум.

Почвата како извор на зараза непосредно сама по себе не претставува извор на зараза, но почвата е природна средина во која се наоѓаат изворите на вирусна инфекција од механичка или биотска природа. Заразените растителни остатоци во почвата се мала потенцијална опасност на растенијата преку кореновиот систем. На овој начин се пренесуваат мал број вируси и инфективноста се задржува кратко т.е. до биолошкото разградување на материјалот. На овој начин може да се пренесуваат само вируси кои имаат високи биофизички константи и кои имаат висока и стабилна концентрација на вирусните честички во растителното ткиво.

Почвената фауна има важна улога како природен извор на вирусни инфекции. Овде најчесто се мисли на нематодите, на пр., од родовите: *Xifinema*, *Longidorus* и *Paralongidorus*, познати како вектори на вирусите од родовите *Nepovirus* и *Sadwavirus*.

Векторите како извор на зараза се најчесто споменуваните живи организми кои ги пренесуваат вирусите од болното на здравото растение.

Во оваа група на вектори покрај животинските организми, значаен вектор е и човекот кој при целокупната манипулација со растенијата директно учествува во ширењето на растителните вируси.

Водечка група на безрбетни вектори преносители на растителните вируси се инсектите, а како пример ќе ги споменеме **лисните вошки**. Се карактеризираат по бројност, подвижност, специфичен устен апарат за бодене и смукање, специфичен начин на исхрана, и со сите овие карактеристики спаѓаат во групата на најефикасни пренесувачи на вирусите во природата. Според една досегашна статистика, лисните вошки се преносители на повеќе од 160 растителни вируси (Hodge & Powell, 2008).

Водечки вид на лисна вошка е зелената лисна вошка *Myrsis persicae*, која е способна да векторира повеќе од 60 растителни вируси. Ова покажува и една друга важна особина за лисните вошки, а тоа е дека се неспецијализирани вектори, затоа што една лисна вошка може да пренесува различни вируси на различни домаќини, или на ист домаќин да пренесе различни вируси, или еден ист вирус да го пренесе на различни домаќини (слика 40).

Лисните вошки се најподвижни вектори. Крилестите облици на лисните вошки можат во едно деноноќие, со помош на воздушните струења да поминат десетина или стотина километри. Затоа, кога се зборува за начин на пренесување на вирусите, секако дека од се погоре напишано може да се констатира дека инсектите вектори – лисните вошки, се најзначајни природни извори на зараза (слика 39 и 40).

Пр., вирусот на шарката на сливата има голем број вектори: *Myrsis persicae*, *Phorodon humuli*, *Brachycaudus helichrysi*, *B. cardui*, *Aphis craccivora* и др. Исто така, вирусот на мозаикот на пченката може да се пренесе со десетина видови на лисни вошки: *Myrsis persicae*, *Schizaphis graminum*, *Rhopalosiphon maydis*.

Покрај лисните вошки, втора значајна група на инсектни вектори се **цикадите**. До денес се опишани околу 60 видови на цикади кои можат да бидат вектори на повеќе од 35 растителни вируси. Карактеристично за цикадите е перзистентниот пропагативен начин на пренесување на вирусите. Вирусите кои се реплицираат во цикадите, можат својата инфективност да ја одржат прилично долго време. Тој процес трае во текот на целиот животен век на некои цикади, а во некои случаи вирусите може да се пренесуваат и на јајцата на женката и на потомството во наредните генерации (слика 41).

Од останатите инсектни вектори кои треба да се споменат се: лисните болви (*Psyllidae*), брашнестите штитести вошки (*Coccidae*), белокрылките (*Aleyroidae*), трипсите (*Thysanoptera*), мрежести стеници (*Gymnocerata*), тврдокрылците (*Coleoptera*), скакулците (*Orthoptera*), кожокрилците (*Dermaptera*) и молците (*Lepidoptera*).

Грините се исто така вброени во групата на инсектни вектори, со околу 8 векторски грини на десетина различни вируси. Грините од фамилијата *Eriophyidae* и *Tetranichidae*, можат да бидат вектори на растителните вируси. Овие артроподи со многу мали димензии, имаат ограничена способност за движење, но на поголема оддалеченост можат да се пренесат по пат на воздушни струења. Единките од грините можат, во различен развоен стадиум, да ги пренесуваат вирусите по пат на исхрана, затоа што се хранат со растителен сок на опачината на листот.

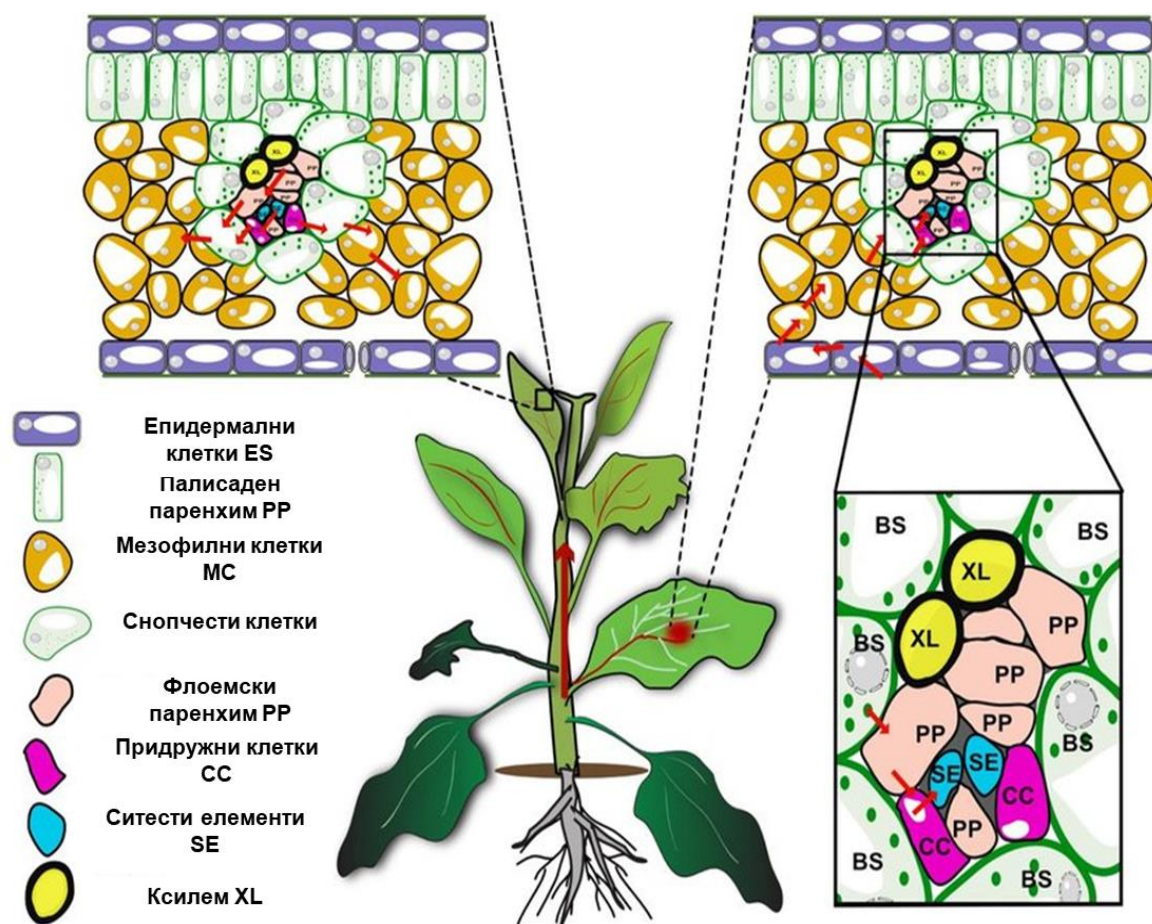
Нематодите се исто така група на вектори кои ги вбројуваме како вирусни вектори, од кои во науката досега се познати околу 20 видови на пренесувачи на вирусната инфекција од околу 14 вируси (Van der Wilk et al., 1994) (слика 42).

Нематодите, како вектори на вирусите, припаѓаат на фамилијата *Longidoridae* и *Trichodoridae*. Во состав на фамилијата *Longidoridae* како позначајни се векторите од родовите *Xiphinema*, *Longidorus* и *Paratrichodorus*. Овие нематоди ги пренесуваат најчесто изометриските вируси, односно полиедарските вируси, кои се означени како НЕПО вируси и се сместени во родот *Nepovirus*. Како најчести групи на вируси кои се пренесуваат со нематодите се: вирус на прстенеста дамкавост кај тутунот (*Tobacco ringspot virus*, TRSV), вирус на прстенеста дамкавост кај домотот (*Tomato ringspot virus*, ToRSV), вирус на заразна дегенерација кај виновата лоза (*Grapevine fanleaf virus*, GFLV).

Како и кај инсектите вектори, така и кај нематодите, пренесувањето на вирусите се одвива во фази, кои опфаќаат примање на честичките на вирусот од страна на векторот, задржување на вирусот во векторот и внесување на вирусот во растението домаќин (Bagi et al., 2016).

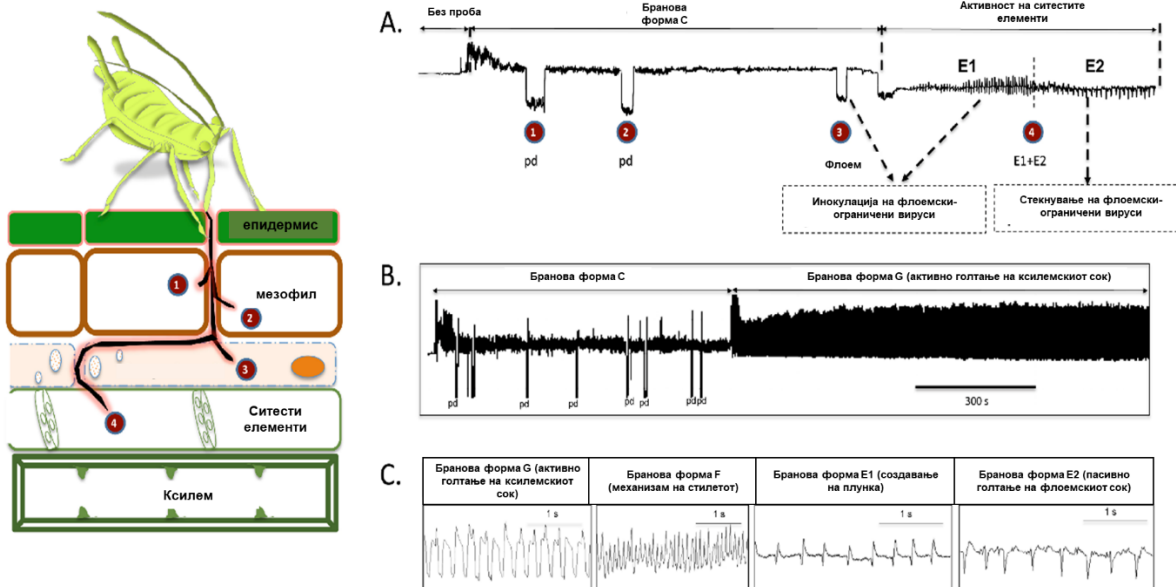
Како извори на вирусните инфекции во природата треба да ги напоменеме и **вишите паразитни цветници од родот *Cuscuta***. Овој род на растенија е многу распространет и претставува извор или директен преносител на голем број штетни видови вируси. Пр., *Cuscuta subinclusa* може да ги пренесе групите на многу распространети полифагни вируси, како вирус на мозаик на краставицата, вирус на мозаик на тутунот, вирус на мозаик на луцерката.

На крај во групата на анимални вектори на растителните вируси, треба да се споменат и **полжавите (*Gastropoda*)**.



Слика 39. Движење на вирусот во растението (По првичната инфекција (црвена дамка), вирусот се движи низ епидермисот)

(адаптирано од https://www.researchgate.net/figure/Movement-of-virus-in-the-plant-Following-the-initial-infection-red-spot-the-virus_fig4_335397272)



Слика 40. Електрично-пенетрационен-графикон (EPG) снимање на зелена лисна вошка (*Myzus persicae*) на *Physalis floridana* Rydb - (A) Преглед на графикони со електрична пенетрација во кои различни броеви означуваат специфични EPG обрасци каде вошката го вметнува усниот стилет во одредена ќелија; (1,2) Потенцијални капки (pd) каде што лисните вошки ги вметнуваат своите стилеви во мезофилните клетки; (3) Флоем-пд; вошка вметнува стилеви во ќелиите на придружните или сито елементи; (4) Стилетите продираат во клеточните елементи
(адаптирано од <https://www.mdpi.com/2223-7747/9/7/895>)



Слика 41. Лисните вошки се хранат со растенија со помош на стилетот кој ги пробива растителните клетки и обично се хранат на опачината на листот; Вирусите можат едноставно да се соберат во и/или на стилетот кога вошката се храни со растение заразено со вирус
(фото: Jay W. Pscheidt, 2021)
(<https://pnwhandbooks.org/plantdisease/pathogen-articles/common/plant-viruses/plant-viruses-dead-alive>)



Слика 42. Нематоди, како што е оваа *Xiphinema* spp. можат да пренесуваат растителни вируси;
Идентификациската карактеристика на овој растително-паразитски нематод се повеќе стилеви каде што еден се губи по секоја фаза на распаѓање; Стилетот се користи за хранење на ткивото на коренот на растенијата каде што нематодот може да ги пренесе вирусите
(фото: Catherine Wram, 2018)
(<https://pnwhandbooks.org/plantdisease/pathogen-articles/common/plant-viruses/plant-viruses-dead-alive>)

Технички материјал. Техничкиот материјал кој се користи во производството на растенијата може да биде носител на некои видови на растителни вируси и претставува опасност за ширење на вирусите во тек на производство на растителен материјал. Мора да се напомене дека со технички материјал може да се пренесат само вирусите кои се пренесуваат по механички пат и вируси кои имаат голема стабилност и висока концентрација во растителниот материјал. Во оваа група вируси, како примери би ги напоменале: вирус на мозаик на тутунот, вирус на мозаик на краставицата, вирус на мозаик на лубеницата, вирус на мозаик на компирот.

Техничкиот материјал кој може да предизвика ширење на вирусната инфекција може да биде:

- (1) материјал за изградба на производните објекти;
- (2) алат и прибор за извршување на агротехничките мерки;
- (3) машини кои се користат во тек на производството.

- (1) **Технички материјал за изградба на производните објекти** – стакленици, пластеници и сите други форми на заштитени простори, посебно во делот на градинарството. На овој материјал може да се нанесе дел од заразен растителен материјал со непосреден допир со заболеното растение, или пак при допир со рака, одело или прибор за работа на работникот на кои има траги од заразен растителен сок. Овој начин на пренесување на вирусната инфекција е посебно важен доколку се одгледуваат осетливи растенија во густ склоп, како на пример при производство на расад за салата или друг вид зеленчук во затворен простор. Техничкиот материјал може да претставува одлична средина за развој на инсектите вектори на вирусната инфекција. Така на пр., во текот на топлите лета на рамките или на слични делови на објектите, може да се развијат и одржуваат трипсите, чии ларви во тек на нивниот животен циклус се вектори на вирусот на бронзена некроза кај домотот (во наши услови се јавува кај домот и пиперка), кој е многу штетен за растенијата од фам. *Solanaceae*.
- (2) **Алат и прибор за работа** (одело, ножици, ножеви, рачна мотика и др.), слично како и претходно споменатиот технички материјал, може да имаат на нив наслаги од заразен растителен сок, кој претставува потенцијален извор на зараза (инокулум). Овој технички извор е многу поопасен материјал и е многу побрз начин на пренесување на вирусниот инокулум, затоа што работниците цело време работат со овој материјал при работа на поле / терен, што значи постојано ги допираат растенијата и на тој начин директно ја пренесуваат инфекцијата. Доколку работниците во затворените простори пушат, богатството со инокулум значително се зголемува, како на рацете на работникот, така и во воздухот се ослободуваат вирусните честички на мозаикот на тутунот. Преку алатот и приборот за работа најчесто се пренесуваат најопасните вируси кај пиперката, домотот, тиквичките, краставиците и салатите, кои можат во потполност да ја уништат бербата на плодовите од овие култури во заштитен простор.
- (3) **Машини кои се користат во тек на производството** – машини кои се користат во тек на садење, обработка и берба, во присуство на заразени растенија можат на сличен начин да станат пренесувачи на вирусната инфекција. Пр., деловите на машината за расадување можат да бидат носачи на заразен растителен сок од заразен расад, и на тој начин при расадувањето директно да ги инокулира здравите растенија.

Пр., вирус на мозаикот на домотот може да се пренесе по пат на механичко садење на околу 80% од расад пиперка, што понатаму во развојот на растенијата во полски услови предизвикува масовно уништување на растенијата.

Машините кои работат во присуство на заразени растенија, можат исто така и при косењето да имаат големо значење, посебно кај повеќегодишните растенија, како луцерката и црвената детелина, на кои при косењето се пренесуваат вирусите на здравите растенија. Најраспространети вируси кои можат да се пренесат на луцерката и црвената детелина се: вирус на мозаикот на луцерката, мозаикот на белата детелина, шаренилата на листот кај црвената детелина и др.

Сите овие горенаведени податоци покажуваат на фактот дека техничкиот материјал е исто така значајна алка во производството на растителниот материјал, но и може во исто време да претставува значаен извор на вирусната инфекција, што особено треба да се внимава при примена на мерки за заштита и дезинфекција на приборот за работа.

На сите овие фактори за пренесување на вирусите во природата, свое влијание имаат и еколошките фактори за развој на епидемиологијата на растителните вируси. Температурните услови се многу значаен фактор за епидемиологијата на растителните вируси, затоа што како абиотски фактор директно влијаат на сите компоненти од триаголникот на заболувањето: растението домаќин – векторот – вирусот. Температурата до одредена граница влијае позитивно на умножувањето на вирусните честички во растителното ткиво, но со покачувањето на температурата се намалува или целосно престанува размножувањето на вирусните честички. Така на пр., за вирусот на шарка на сливата (*Plum pox potyvirus*, PPV), била следена инфективноста на вирусот на пет различни изолата на вирусот, па на температура од 17°C немало разлика во степенот на инфективност кај различните соеви, додека на температура од 32°C, настанало инхибирање кај сите изолати. На температура од 30°C, постоела разлика во инфективноста кај различните соеви од PPV. Според истражувањата било докажано дека со покачување на температурата над оптималната, се намалува движењето на вирусот од клетка во клетка, а со тоа се намалува и степенот на размножување на вирусот во клетката домаќин (Bagi et al., 2016). Оптималната температура кај поголем број вируси се движи во граници од 20 до 28°C. Во однос на ова, имајќи го предвид температурниот оптимум, минимум и максимум, термотерапијата претставува значајна мерка за заштита и добивање на безвирусен саден материјал.

Освен температурата, важен фактор за пренесувањето и размножувањето на вирусите во природата е и влажноста, која подразбира количина на врнежи во текот на годината, видот и количината на наводнувањето, почвената влага, постоење на слободна вода во почвата и релативната влажност на воздухот. Сите овие видови на влажност се во директна корелација со условите кои се погодни или помалку влијаат на размножувањето и ширењето на вирусите со помош на векторите.

Преку водата за наводнување, ретко, но сепак можат да се пренесат само вируси кои имаат висока постојаност. Со помош на силни дождови, можат да се измијат колониите од лисните вошки и на тој начин да се намали бројноста на векторите, додека пак условите за град можат да предизвикаат оштетувања на растенијата преку кои може да дојде до инфекција од растителните вируси.

Ветерот како фактор на влијание, во голема мерка влијае на разнесување на инсектите вектори, но и промена на правецот на движење на инсектите, а со тоа директно влијае на самата вирусна инфекција. Со помош на ветерот, на големи далечини се пренесуваат цикадите и лисните вошки, но можат да се пренесат и грините. Според литературни податоци, лисните вошки можат да се пренесат на далечина од 60 метри, а грините и до десетина километри (Bagi et al., 2016).



ПОГЛАВЈЕ 7. НАЧИНИ НА ПРЕНЕСУВАЊЕ НА ВИРУСИТЕ ВО ПРИРОДАТА

7.1. Како се пренесуваат растителните вируси во природата?

ПОГЛАВЈЕ 7. НАЧИНИ НА ПРЕНЕСУВАЊЕ НА ВИРУСИТЕ ВО ПРИРОДАТА

7.1. Како се пренесуваат растителните вируси во природата?

Вирусите предизвикуваат заболувања кои се нарекуваат **вирози**. Вирусите имаат едноставна градба и претставуваат честички со голема молекуларна тежина. За да настане инфекција, неопходно е вирусот да биде внесен во клетката домаќин, каде што потоа (најчесто), во цитоплазмата на клетката отпочнува развојниот циклус. Внесувањето на вирусите се одвива на повеќе начини: со инсекти, нематоди, пајачиња, со паразитски цветници, со паразитски габи на коренот на растението, со семе, со полен, со калемење или со контакт на заразени со здрави растенија. Единствен вирус што се пренесува преку механички пат е вирусот на мозаик на тутунот.

Вирусната инфекција може да биде ограничена на местото каде што настанала, при што се појавуваат локални симптоми или може да го зафати целото растение. Вирусите се специфични по тоа што нивните инфекции не можат да се спречат со хемиски средства ниту пак да се лечат. Еднаш заразеното растение со вируси не може да се излечи. Борбата против вирозите се изведува со отстранување на изворот на инфекција и користење на здрав репродукционен материјал. Заштита на растенијата е можна и со одгледување и користење на отпорни форми на растенијата, но при тоа не треба да се заборава дека не постојат трајно отпорни форми на растенија. Како патогени, вирусите се многу селективни при изборот на домаќин. Тие се тесно специјализирани така што покажуваат афинитет не само кон одреден вид домаќин, туку и кон сортите (култиварите) кај растенијата.

Успешното внесување на вирусот во цитоплазмата се обезбедува преку фини повреди на клеточниот ѕид или плазмалемите на клетките. Овие повредени места мора да бидат суптилни за да можат на природен начин брзо да се регенерираат. Само во тој случај инокулираните клетки можат да продолжат со развојот, но во исто време и да станат домаќини на вирусната инфекција.

Внесувањето на вирусите во растителните клетки во природни услови најчесто се случува со вектори од животинско потекло (инсекти, нематоди, пајачиња), со некои видови габи или по механички пат (со допир на растенијата, преку човекот или животните – единствен вирус кој се пренесува по механички пат е вирусот на мозаикот на тутунот). Многу поретко, но сепак се случува во природата вирусите можат да се пренесат и преку поленовите зрна. Само 10% од вкупниот број на растителни вируси можат да бидат пренесени преку семето. Идеален начин на механичка трансмисија на вирусите е по пат на калемење, каде се овозможува непосреден допир на клетките.

Многу растителни вируси во природата се пренесуваат преку животинските организми преку исхраната со растителните домаќини кои веќе се вирусно инфицирани. Ваквите животински организми всушност имаат улога на вектори. Во најголем број случаи, вектори на растителните вируси се членконогите. Од нив најбројни се инсектите, посебно оние со устен апарат за бодeње и смукање. Освен инсектите, како вектори на растителните вируси познати се и некои видови на пајачиња. Од анималните вектори на растителните вируси, најчесто се јавуваат нематодите.

Сите овие вектори имаат основни принципи на пренесување на растителните вируси, за почеток векторот се контаминира со соодветниот вирус преку хранењето од заразен растителен сок и понатаму истиот тој вектор го пренесува вирусот на еден или повеќе нови здрави домаќини (Blanc et al., 2014).

Пренесување со инсектни вектори

Во природата постојат неколку проучени начини на пренесување на растителните вируси преку нивните анимални вектори (табела 3):

(1) Неперзистентен начин на пренесување (слика 43)

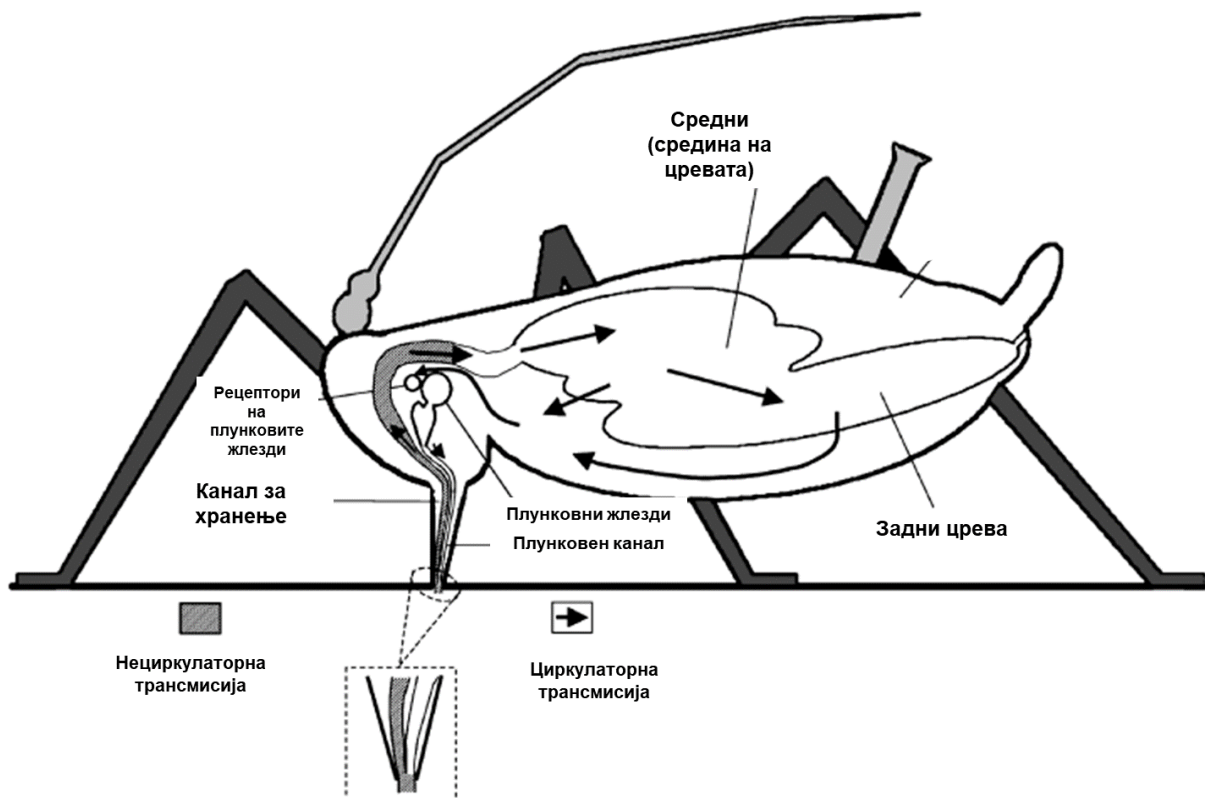
Векторите се преносители на растителните вируси откако преку исхраната вирусите ќе се најдат во усниот апарат. Во овој случај пренесувањето (трансмисијата) на вирусот на нов домаќин може да се оствари во многу краток временски период (од неколку секунди до неколку минути). Денес е познато дека повеќе од 300 растителни вируси (кои припаѓаат на пр., на род *Alfamovirus*, *Caulimovirus*, *Closterovirus*, *Cucumovirus*, *Fabavirus*, *Macluravirus*, *Potyvirus*) се пренесуваат на неперзистентен начин со помош на лисни вошки како инсектни вектори (Moreno et al., 2005).

(2) Перзистентен (полуперзистентен / циркулаторен) начин на пренесување (слика 44)

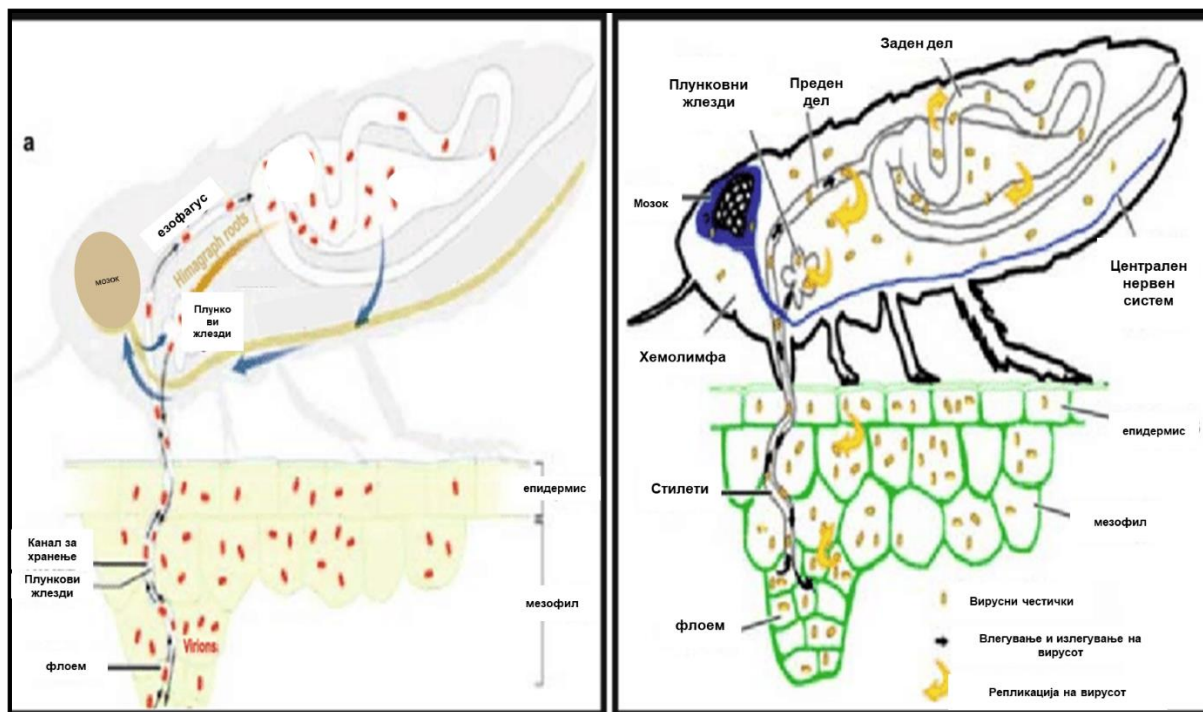
Кај овој начин на пренесување на вирусите се случува вирионите да стигнат до дигестивниот тракт. Ова е процес кој трае различен временски период и уште се нарекува **аквизиционен или период на усвојување**. Потоа следува процес на навлегување на вирионите во циркулаторниот систем и преку него навлегување во плунковите жлезди и плунката. Овој процес временски трае различно и е различен за различни интерактивни односи вирус : вектор и се нарекува **латентен период**. Следниот чекор во овој начин на пренесување на вирусите е на новото растение на кое се исхранува векторот да ги пренесе вирионите кои се диспергирани во плунката. Периодот на исхрана на новиот домаќин при кој треба успешно да се инокулираа домаќинот се нарекува **инокулационен период**. Кај различни вируси и вектори и овој период трае различно. Споредбено **перзистентен (полуперзистентен / циркулаторен) начин на пренесување** во однос на неперзистентниот начин трае подолго, и времетраењето изнесува од неколку часа до неколку денови. Периодот за одржување на инфективноста на векторот се нарекува **ретенционен период**. При овој начин на пренесување на вирусите, важно е да се напомене дека **НЕ се случува размножување на вирионите во ткивата на векторот**.

(3) Перзистентен (пропагативен) начин на пренесување (слика 45)

При овој начин на пренесување на вирусите се случува вирусоните да се размножуваат (реплицираат) во ткивата на инсектите. Во овој случај растителните вируси имаат т.н. **двојност на домаќини**, односно може да се реплицираат и во растителната и во анималната клетка. Според мислења на некои научници повеќето вируси кои имаат перзистентен (пропагативен) начин на пренесување еволуирале од анималните вируси. Во оваа група спаѓаат вируси од фам. *Rhabdoviridae*, *Reoviridae*, *Bunyaviridae*. Истражувањата покажале дека вирусите кои се пренесуваат на перзистентен (пропагативен) начин, се размножуваат во анималните вектори, но не предизвикуваат штети за анималните домаќини. Ова е особено значајно за пренесувањето на растителните вируси, затоа што во векторот вирусот се реплицира во текот на целиот негов живот, а во некои случаи може да се пренесе и на потомството во неколку генерации. Преку овој начин на пренесување на вирусите се овозможува одржување на вирусот во текот на зимскиот период или во отсуство на растение домаќин. И во овој начин на пренесување на вирусите како и кај перзистентен (полуперзистентен / циркулаторен) начин на пренесување, постојат следниве периоди: **аквизиција (усвојување), латентен период, инокулационен период и ретенционен период**. Разлика постои само во латентниот период (подигнување на критично ниво на инфективност) и ретенциониот период (одржување на инфективноста), кои периоди кај пропагативните вируси се поклопуваат со процесот на репликација на вирусот во телото на векторот.



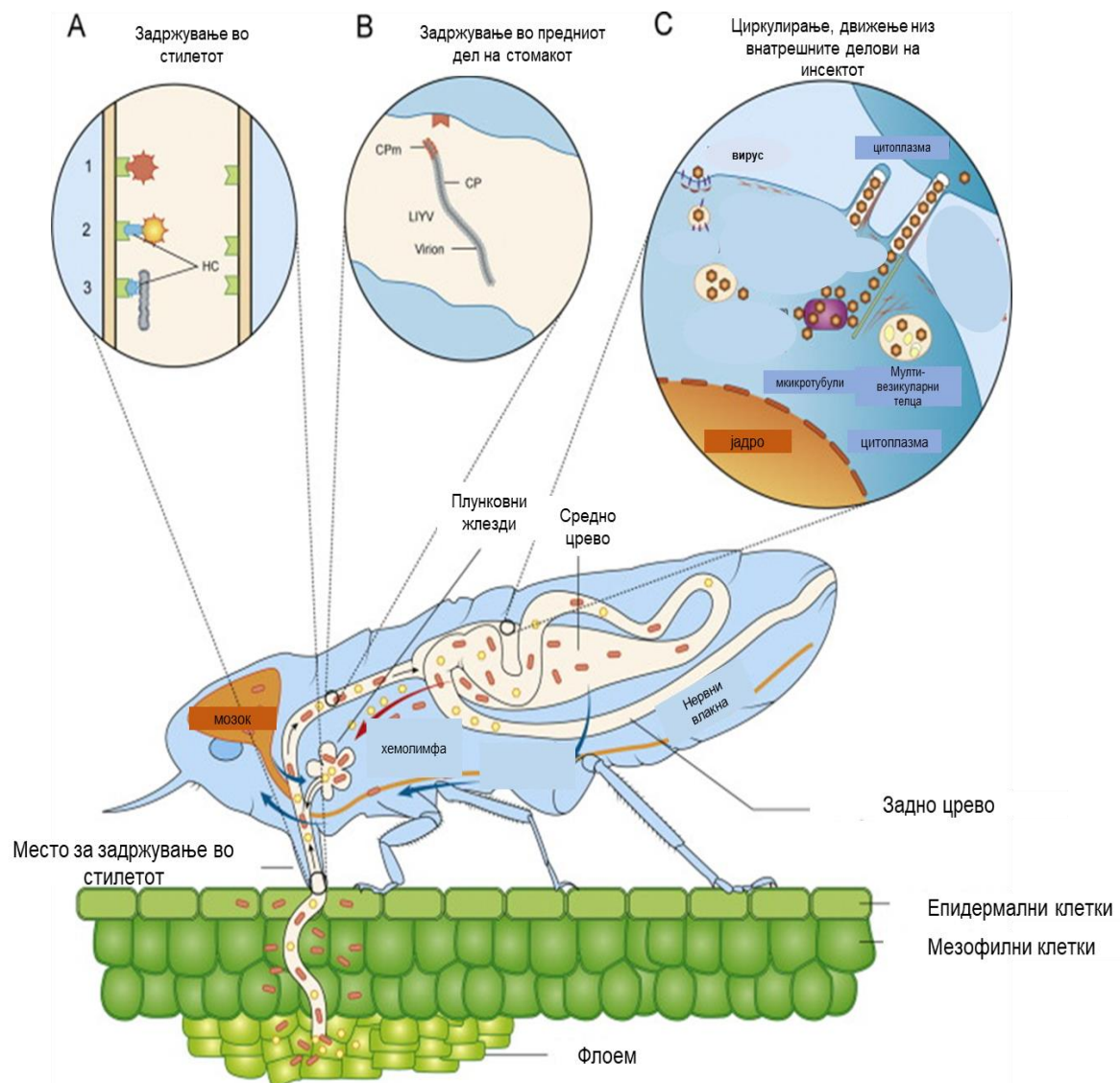
Слика 43. Неперзистентен начин на пренесување на вирусната инфекција (адаптирано од <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1364-3703.2004.00240.x>)



Слика 44. Механизам за пренос на перзистентен начин на растителен вирус (А) Перзистентен циркулативен вирус (Извор: Ammar et al., 2009) (Б) Перзистентен пропегативен вирус (Извор: Hogenhout et al., 2008) (адаптирано од https://www.researchgate.net/figure/Transmission-mechanism-of-persistent-plant-virus-A-Persistent-circulative-virus_fig1_340684125)

Табела 3. Примери на растителни вируси пренесени од лисни вошки од различни семејства организирани според нивните начини на пренесување (Ng & Perry, 2004)

Начин на пренесување	Фамилија	Род	Број на видови*	Име на вирус†
Нециркулативен Неперзистентен	<i>Bromoviridae</i>	<i>Alfavirus</i>	1	<i>Alfalfa mosaic virus</i>
	<i>Bromoviridae</i>	<i>Cucumovirus</i>	3	<i>Cucumber mosaic virus</i>
	<i>Comoviridae</i>	<i>Fabavirus</i>	4	<i>Broad bean wilt virus-1</i>
	<i>Potyviridae</i>	<i>Macluravirus</i>	2	<i>Maclura mosaic virus</i>
	<i>Potyviridae</i>	<i>Potyvirus</i>	91	<i>Potato virus Y</i>
	Unassigned	<i>Carlavirus</i> ‡	31	<i>Carnation latent virus</i>
Нециркулативен Полуперзистентен	<i>Caulimoviridae</i>	<i>Caulimovirus</i>	9	<i>Cauliflower mosaic virus</i>
	<i>Closteroviridae</i>	<i>Closterovirus</i>	8	<i>Beet yellows virus</i>
	<i>Sequiviridae</i>	<i>Sequivirus</i>	2	<i>Parsnip yellow fleck virus</i>
	<i>Sequiviridae</i>	<i>Waikavirus</i> ¶	3	<i>Anthriscus yellows virus</i>
	Unassigned	Unassigned	1	<i>Black raspberry necrosis virus</i>
	Unassigned	Unassigned	1	<i>Strawberry mottle virus</i>
Циркулативен, Непропагативно	<i>Luteoviridae</i>	<i>Enamovirus</i>	1	<i>Pea enation mosaic virus-1</i>
	<i>Luteoviridae</i>	<i>Luteovirus</i>	2	<i>Barley yellow dwarf virus</i>
	<i>Luteoviridae</i>	<i>Polerovirus</i>	5	<i>Potato leaf roll virus</i>
	<i>Luteoviridae</i>	<i>Umbravirus</i>	7	<i>Carrot mottle virus</i> ‡
	Unassigned	<i>Nanovirus</i>	4	<i>Banana bunchy top virus</i>
	Unassigned	<i>Sobemovirus</i> **	11	<i>Blueberry shoestring virus</i>
Циркулативен, Пропагативен	<i>Rhabdoviridae</i>	<i>Cytorhabdovirus</i> ††	8	<i>Lettuce necrotic yellows virus</i>
	<i>Rhabdoviridae</i>	<i>Nucleorhabdovirus</i> ††	7	<i>Sonchus yellow net virus</i>



Слика 45. Места за локализација на вируси во вектори на инсекти. Не-циркулативните вируси се задржуваат во стилот на инсекти (А) или предното црево (Б). Непропагативните циркулативни (жолти кругови) вируси се генерално ограничени на флоем и продираат во телото на инсектот преку средното или задното црево. Циркулативните вируси користат хемолимфен пат за да стигнат до плунковните жлезди. Спротивно на тоа, циркулативните пропагативни вируси (црвени овали) влегуваат во инсектот во предниот регион на средното црево и/или регионот на комората за филтрирање. Пропагативните вируси можат да користат хемолимфен пат, а други, како што се *Rhabdoviruses*, исто така користат невротропен пат за да стигнат до плунковните жлезди. Пропагативните вируси се реплицираат во клетките на средното црево и другите ткива на инсекти. Некои пропагативни вируси се ограничени на флоем, додека други се широко распространети во растителните ткива. Плунковните жлезди се крајната дестинација за циркулативен пренос, а вирусите стигнуваат до плунковните жлезди преку хемолимфата или други патишта како што е нервното ткиво (невротропен пат) или преку сврзните ткива. Реовирусите користат тубули за да се преместат од клетка во клетка во средното црево, а друг ја користи тубуларната структура за да ја помине базалната ламина (С).

Инсекти

Зголемување на стилетот на инсекти што го покажува предложеното место на прицврстување на вирион на врвот на стилетот во регионот на заедничкиот канал (**A**). Броевите ги означуваат различните стратегии за врзување и задржување на вирионот во стилетот: стратегија на капсид, директно врзување на капсидниот протеин со стилетот (1), стратегии за помошни компоненти за каулимовируси, два вирусни протеини служат како „мост“ помеѓу вирионот и стилетот. (2) Потивируси, еден вирусен протеин (HC-Pro) се врзува за стилот на вошката и за вирусот (3). Вметнување Б: Зголемување на местото на задржување на предното црево и предложена стратегија за врзување на капсидите што ја користат *Criniviruses*. Минорниот капсиден протеин (CPm) е протеинот за прикачување на вирусот. Вметнување В: Чекорите во циклусот на инфекција со реовирус и ширењето на соседните клетки моделирани на вирусот на цуцест ориз (*Rice dwarf virus*). Вирусот на цуцест ориз навлегува во клетките користејќи ја ендоцитната патека и по ослободувањето на вирионот од везикулата започнува циклусот на репликација. Вирионите од потомството се движат од клетка во клетка преку структурите на тубулите составени од вирусни неструктурни протеин. Ова им овозможува на вирионите да се движат директно од една клетка во друга без екстрацелуларна фаза (Whitfield et al. 2015).

Друга група на вектори на растителните вируси кои се исто така значајни да се споменат во растителната вирологија се ситните животински организми наречени **нематоди**. Овие вектори припаѓаат на групата на најтешко контролирани и имаат висок ризик за ширење на вирусните инфекции.

Пренесувањето на растителните вируси со помош на **нематодите** се одвива во седум одделни, но меѓусебно поврзани процеси: (1) исхрана и (2) голтање, (3) аквизиција (усвојување), (4) атсорпција, (5) ретенција, (6) ослободување и (7) трансмисија.

Голтањето претставува внесување на вирусните честички од инфицираните растенија во процесот на исхрана. Во фазата на аквизиција, усвоените вирусни честички во најголем број се „препознаени“ од соодветните **рецептор – места**, сместени во усниот апарат на векторот и во интактна состојба можат да бидат воведени во процес на атсорпција. Откако ќе бидат атсорбирани, инфективните вирусни честички можат да бидат конзервирани во нематодите до неколку месеци или подолго до години, сè до наредното пресликување во т.н. **зони на ретенција**.

Ослободувањето на вирусните честички од ретенционата зона започнува со промената на рН вредностите на плунката при започнување на процесот на исхрана на инфицираните индивидуи на нов домаќин, со што започнува процесот на трансмисијата.

Во процесот на пренесување на растителните вируси со помош на векторите - нематоди, досега нема забележано случај на репликација на вирусите во векторите. Научните истражувања не покажале присуство на вирусни честички во внатрешноста на клетките на нематодите, а тоа докажува и дека вирусите не се пренесуваат преку јајцата на векторските нематоди.

Пренесување со калемење

Како што е наведено во делот 6.3. Извори на вирусни зарази, растителниот материјал е важен избор на зараза на други растенија со вирусна инфекција. Како постојан избор на зараза со вирусна инфекција се смета вегетативниот растителен материјал, особено кога станува збор за повеќегодишните култури, како виновата лоза и овошните култури.

Калемењето е процес на спојување на живи вегетативни делови на различни растенија, и како резултат се добива производ – нов растителен организам. Кога се воспоставува ваква врска на калемење, се овозможува реализирање на механизмите на меѓуклеточно и садовно ширење на вирусите. Тоа значи дека, доволно е вирусот да се наоѓа само во едниот дел и после успешното калемење (компатибилност), целото новодобиено растение ќе биде заразено. Најчест начин, новодобиената садница да биде вирусно заразена, е доколку биле користени заболени матични растенија кои пред процесот на калемење не биде проверени. Исклучок може да се случи, само доколку растителниот материјал за калемење е земен од делумно заразени матични растенија, каде вирусната зараза не стигнала до зоните кои се земени како калем гранки.

Временскиот период за појава на првите симптоми кај новодобиеното растение е различен, од неколку дена до неколку месеци, па и до подолг период и пред сè зависи од инфективноста и концентрацијата на вирусот, местоположбата на вирусот (оние кои се наоѓаат надвор или подалеку од основните спроводни садови, им треба подолг период за да ја манифестираат инфекција во форма на симптом).

Во зависност од времето на калемење, симптомите можат да се забележат истата година (калемење направено рано напролет), или пак наредната година (калемење направено на крајот на летото).

Механичко пренесување

Механичкото пренесување се случува само преку рани или преку директен допир на растителните делови. За трансмисијата на вирусот да биде успешна, раните на растителните клетки треба да бидат многу минимални, за да може растителните клетки да се обноват, т.е. не треба растението да изумре или да отпадне тој дел од растението, туку треба тој дел да е место од каде ќе започне примарниот процес на репликација.

Механичките трансмисии во природни услови се случуваат при непосреден допир на заболени (вирусно инфицирани) и здрави растенија, со допир со заразени раце, или пак со технички материјал – прибор (алат) за работа. Ова особено е значајно за растенија во расадничко производство, или пак за растенија кои се одгледуваат во густ склоп.

Во лабораториски услови пак, се изведува механичка трансмисија на вирусите за да може да се докажат т.е. да се проучуваат лабораториски. За да се изведе механичката (вештачка/лабораториска) трансмисија, потребни се тест растенија, од кои најчесто во лабораториски услови се користат различни видови од родот на тутун (*Nicotiana*): *Nicotiana tabacum*, *N. clevelandi*, *N. benthamiana*, *N. rustica*, *N. glutinosa*, како и *Petunia hybrida*, *Datura stramonium*, *Chenopodium amaranticolor*, *Ch. quinoa* и др.

На почетокот на развојот на вирологијата, растителните виролози инокулирале растителен сок од едно заболено растение директно на здраво тест растение, преку процес на инектирање (преку користење на игла) (слика 46).



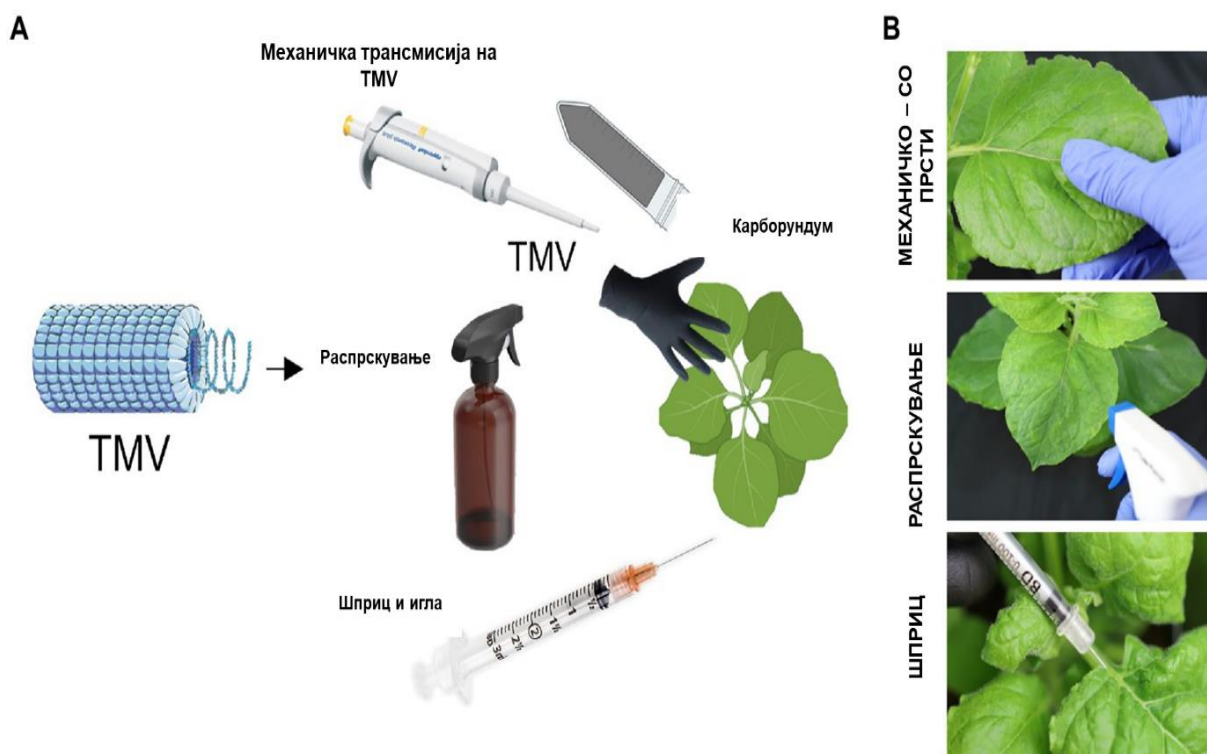
Слика 46. Механичко вирусно инокуирање со игла
<https://www.youtube.com/watch?v=8TN0mXMnO6c>

Но, овој метод набрзо бил напуштен. Голем број научници го применуваат методот на триење на инокулумот по површината на листот со прстот, или пак извршиле нанесување на инокулумот со помош на памучна газа, шпатула, тврда четка. Ова биле комбинации кои биле употребувани за нанесување на инокулумот во процес на механичка трансмисија (слика 47 и 48).



Слика 47. Механичко пренесување на вирусот
 (а. со толчник нанесување на инокулум;
 б. со распрскување;
 с. нанесување на инокулум со прстот.)
https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-0716-0334-5_6

При користење на горенаведените техники на лабораториска механичка трансмисија, пред било кој начин да го одберете на пренесување потребно е да се користи абразивен прав – карборундум (силициум-јаглерод), кварцен песок (силициум-оксид) или пак алуминиумов прав (алуминиум-оксид), кои имаат дејство да направат мали ранички на листот при нанесување на инокулумот за да можат вирусните честички да навлезат во растението домаќин. Во спротивно, може да се случи вирусните честички да не го пронајдат местото на навлегување и да дојде до распаѓање на вирусниот геном.



Слика 48. Експерименталниот дизајн - TMV како модел за тестирање на: механичка инокулација (со прсти), спреј (со распрскување) и инокулација со шприц (адаптирано од https://www.frontiersin.org/files/Articles/963756/fpls-13-963756-HTML/image_m/fpls-13-963756-q001.jpg)

ПОГЛАВЈЕ 8. ЕФЕКТИ НА ВИРУСИТЕ ВРЗ РАСТЕНИЈАТА

- 8.1. Патоцитологија во растителната вирусологија**
 - 8.1.1. Цитоплазматски промени во растителна клетка**
 - 8.1.2. Хипоплазматски промени**
 - 8.1.2.1. Хипоплазматски промени предизвикани од вируси**
 - 8.1.3. Хиперплазматски промени**
 - 8.1.4. Цитохроматски промени**
 - 8.1.4.1. Хроматски промени кај постојаните пигменти**
 - 8.1.4.2. Хроматски промени на каротеноидите**
 - 8.1.4.3. Хроматски промени на антоцијаните и флавоноиди**
 - 8.1.4.4. Образување темни пигменти**
 - 8.1.4.5. Бела обоеност на растенијата**
- 8.2. Пропустливост на болните растителни клетки**
- 8.3. Количина и движење на водата во болните растенија**
 - 8.3.1. Промени во апсорпцијата на вода во растителните корени**
 - 8.3.2. Промени во движењето на вода во растението**
- 8.4. Минерална исхрана на болните растенија**
 - 8.4.1. Промена во апсорпцијата на минерални материи**
 - 8.4.2. Промени во преносот на минерални материи**
 - 8.4.3. Промени во искористување на хранливите материи во клетката**
- 8.5. Фотосинтеза на болните растенија**
 - 8.5.1. Фотосинтеза на растенијата**
 - 8.5.2. Патолошки промени во фотосинтезата**
 - 8.5.2.1. Општи промени во фотосинтезата**
 - 8.5.2.2. Посебни промени во фотосинтезата**



ПОГЛАВЈЕ 8. ЕФЕКТИ НА ВИРУСИТЕ ВРЗ РАСТЕНИЈАТА

Голем број на промени кои настануваат кај растенијата во природата можат да бидат како резултат на вирусна инфекција, а како многу значајни и карактеристични промени кај растенијата кои алармираат дека има присуство на вирус во самото растение се: пожолтување/хлороза (yellowing / chlorosis), умирање на растителното ткиво/некроза и промени во растот кај растенијата.

Најголем број вируси во природата го инфицираат растението домаќин системски и на тој начин го поминуваат целиот свој живот во тоа растенија. Така и се пренесуваат на други растенија (од едно заболено на здраво растение).

Во прилог на ова поглавје ќе бидат опишани промените кои настануваат кај растенијата како резултат на вирусна инфекција.

8.1. Патоцитологија во растителната вирусологија

Патоцитологијата е наука која се занимава со проучување на градбата и организацијата и животните активности на болните клетки. Како што цитологијата е наука која ги проучува клетките, така патоцитологијата е наука која ги проучува болните клетки. Единствено заедничко за овие две научни дисциплини е што како предмет на проучување ја имаат основната градбена единица – клетката.

Патоцитологијата како научна дисциплина се развила со воведување на новите методи во истражувањето на болните клетки, како што се примена на електронската микроскопија, ултрацентрифугирањето, спектрофотометријата и сл.

Заразената растителна клетка за разлика од здравата растителна клетка се одликува со патолошки промени, предизвикани од: живи (биотски) и неживи (абиотски) фактори. Во групата на биотски фактори спаѓаат причинители како: габи, бактерии, вируси, микоплазми и рикеции. Во групата на абиотски фактори спаѓаат причинители на бројни: физички, механички, хемиски повреди, неправилна исхрана на растението, неповолни надворешни климатски услови и слично.

Патолошките промени во клетката можат да се поделат на промени во градбата, организацијата и функциите на клетката.

Постојат повеќе типови на патоцитолошки промени. Сите се сместени во неколку основни типови, првенствено според механизмот на нивното одвивање. Цитоплазматската активност се однесува на делбената активност на растителната клетка.

8.1.1. Цитоплазматски промени во растителна клетка

Цитоплазматската активност се однесува на делбената активност на растителните клетки. Делбената активност се менува под дејство на различни биотски и абиотски фактори. Во оваа група спаѓаат три промени: **физиолошки, трауматски и инфекциски промени.**

Физиолошките промени се поврзуваат со исхраната на растенијата и условите на надворешната средина, потребни за делба.

Трауматските промени настануваат по механичка повреда на растителните делови, предизвикувајќи поинтензивна делба на клетките околу местото на повреда.

Инфекциските промени настануваат под дејство на паразитот и се развиваат на различни начини.

Во групата на цитоплазматски промени се вклучуваат две групи на промени и тоа: **хипоплазија и хиперплазија.**

Хипоплазија е процес во кој се создаваат помал број клетки, за разлика од незаразените растителни ткива. Намалената делба може да е последица на заразените меристемски клетки или посредно последица на заразените други клетки и растителни делови. Хипоплазматските промени можат да предизвикаат и паразити што го зафаќаат коренот и спроводните садови на растението.

Хиперплазија претставува прекубројно делење на клетките под дејство на паразитите, што доведува до зголемување на бројот на клетките во ткивата. Таа е придружена со хипертрофија што се манифестира со зголемен обем на заболеното ткиво, како последица од нападот на паразитските клетки. Овие процеси надворешно се манифестираат со појава на разни тумори, израстоци, енации, „вештеркини метли“, накадрување на листовите.

8.1.2. Хипоплазматски промени

Хипоплазија (од грчките зборови ὑπο- hypo-, „помало“ + πλάσις plasis, „формирање, создавање“), означува недоволна развиеност или нецелосен развој на одредено растително ткиво или орган. Терминот не секогаш се користи правилно, бидејќи тој означува несоодветен број формирани растителни клетки, односно под нормалниот број клетки што треба да се образуваат. Хипоплазијата е процес сличен на аплазијата, само со помал интензитет.

Хипоплазија е процес во кој се создаваат помал број клетки, за разлика од незаразените растителни ткива. Намалената делба може да е последица на заразените меристемски клетки или посредно последица на заразените други клетки и растителни делови. Хипоплазматски промени можат да предизвикаат и паразити што го зафаќаат коренот и спроводните садови на растението.

Хипоплазматските промени најчесто ги има кај растенијата кои се делумно системски заразени. Најчести причинители меѓу останатите групи на патогени се **вирусите и микоплазмите**.

Вирусот на мозаик на пченката може да го намали порастот на растенијата 5 - 19 %, а приносот и до 21 % (слика 49 и 50). Вирусот на цртичест мозаик на пченицата го намалува порастот на пченицата за 16 – 25 %, а приносот за 53 – 59 %. Вирусот на краставост на сливата ја намалува делбената активност на клетката и диференцијацијата на меристемските клетки, поради што сите органи заостануваат во порастот.



Слика 49. Вирус на мозаик кај пченката (*Brome mosaic bromovirus* (BMV) (Симптоми изразени по линиската нерватура како светло жолти просветлувања и намалени листови)

(<https://m.farms.com/news/brome-mosaic-found-in-corn-126643.aspx>)



Слика 50. Површина со вирусна инфекција (Хипоплазматски промени предизвикани од вирус на мозаикот кај пченката)

(<https://m.farms.com/news/brome-mosaic-found-in-corn-126643.aspx>)

8.1.2.1. Хипоплазматски промени предизвикани од вируси

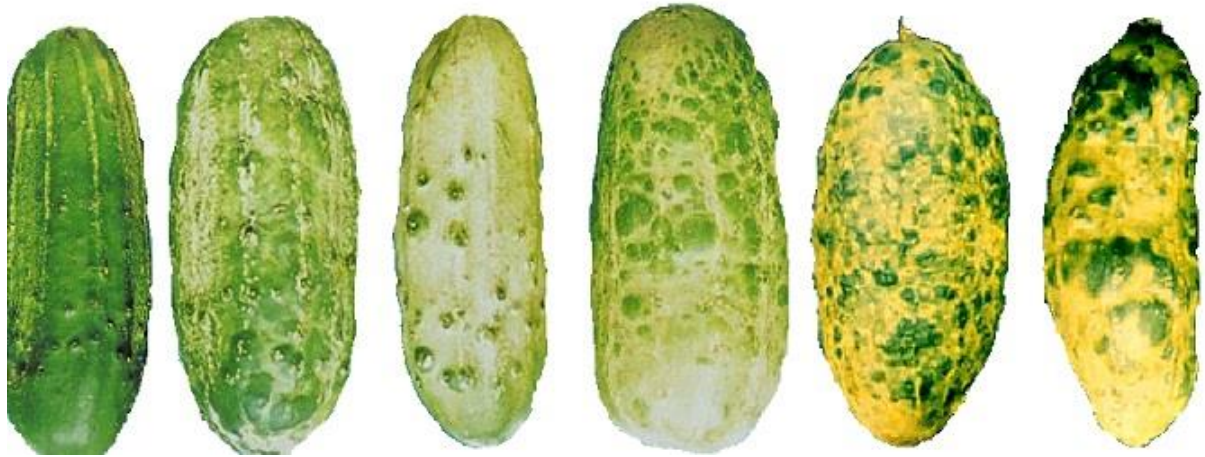
Атрофија претставува заостанување на порастот на одделни делови од растенијата најчесто како резултат на влијанието на вирусите и фитоплазмите.

Нанизам најчесто настанува под дејство на вирусите и фитоплазмите кои предизвикуваат генетски промени, така што растенијата заостануваат во целокупниот пораст (остануваат спечени).

На пример, *Cucumber mosaic virus* (CMV) - вирусот на мозаик на краставицата и растенијата од фамилија *Cucurbitaceae* предизвикува намалена делба на клетките, проследени со атрофија (слика 51).

Вирусот на краставост на сливата ја намалува делбената активност на клетката и диференцијацијата на меристемските клетки, поради што сите органи заостануваат во порастот.

Вирусот на мозаик на пченката може да го намали порастот на растенијата 5 – 19 %, а приносот и до 21 %. Вирусот на цртичест мозаик на пченицата го намалува порастот на пченицата за 16 – 25 %, а приносот за 53 - 59 %.



Слика 51. Хипоплазматски промени предизвикани од *Cucumber mosaic virus* (CMV) (Морфолошка деформација на плодовите и мозаично шаренило) (<https://luv2garden.com/control-cucumber-mosaic-virus/>)

8.1.3. Хиперплазматски промени

Хиперплазматските промени се карактеризираат по тоа што меристемските клетки прекумерно се делат, создаваат поголем број клетки, за разлика од незаразените ткива. Хиперплазматската промена уште се нарекува клеточна пролиферација. Во овој процес учествуваат примарни и секундарни меристемски клетки. Многу клетки создадени во текот на хиперплазијата се диференцираат во трајни клетки. Хиперплазматските трајни клетки градат секундарно паренхимско ткиво и оваа појава е патолошка паренхимизација.

Прекумерната делба на растителните клетки што излегува надвор од контрола се нарекува неоплазија, а промените што се случуваат во растението се неоплазматски промени. Неоплазматските промени најчесто се случуваат на стеблото, гранките и на подземните органи (на коренот и кртолите). Според внатрешната градба, неоплазматските промени се делат на прости и сложени.

Простите се склоп од неиздиференцирани клетки, различна големина и неправилен облик. Најчесто се нарекуваат: **раковини, тумори, енации и брадавички.**

Хиперплазија претставува прекубројно делење на клетките под дејство на паразитите, што доведува до зголемување на бројот на клетките во ткивата. Таа е придружена со хипертрофија што се манифестира со зголемен обем на паразитираните клетки. Овие процеси надворешно се манифестираат со појава на разни тумори, израстоци, енации, „вештеркини метли“ и со накадривање на листовите. Туморите предизвикани од растителните вируси, се со ненормален раст на растенијата или со отоци составени од растително ткиво (слика 52).



Слика 52. Дабови тумори (гали): Туморите се со ненормален раст на растенијата или отоци составени од растително ткиво. Туморите обично се наоѓаат на зелените делови или на гранчињата. Овие необични деформитети можат да бидат предизвикани и од хемикалии или стимуланси кои го регулираат растот на растенијата, произведени од инсекти или други видови штетни членконоги. Хемикалиите произведени од вирусите го попречуваат нормалниот раст на растителните клетки

https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Introductory_and_General_Biology/Book%3A_General_Biology_%28Boundless%29/21%3A_Viruses/21.02%3A_Virus_Infections_and_Hosts/21.2%3A_Plant_Viruses

Хиперплазија (од старогрчкиот $\upsilon\pi\acute{\epsilon}\rho$ „повеќе“ + $\pi\lambda\acute{\alpha}\sigma\iota\varsigma$ „формирање“), или хипергенеза, е зголемување на количината на органска материја што настанува при размножување на клетките. Тоа може да доведе до поединечно проширување на органот и терминот понекогаш се меша со локална неоплазија или локален тумор. Микроскопски гледано, клетките од оваа појава личат на нормалните растителни клетки, но се зголемува само нивниот број. Во одредени случаи кога се менува и големината на растителната клетка, (со тоа што се менува во обликот) се нарекува **хипертрофија**.

Хиперплазијата всушност ги вклучува сите причинители што ќе предизвикаат зголемување на бројот на клетките во растението.

8.1.4. Цитохроматски промени

Бојата на растенијата е нивна природна карактеристика и сите промени кои се поврзани со оваа одлика се означени како цитохроматски промени.

Според бојата, растенијата имаат различни активности кои се незаменливи во одржување на растителниот и животинскиот свет. Обојувањето се постигнува со посебната градба на растенијата што се приспособувале и непрекинато се усовршувале во развојот на растителниот свет.

Според бојата, растителниот свет има голема разновидност и затоа промените во бојата се најбројни и најразновидни. Овие промени се најзастапени и најмногу привлекуваат внимание кај фитопатолозите.

Бојата претставува интересен предмет на многубројни теориски и практични испитувања. Теориските испитувања се однесуваат на нивната биосинтеза, функција во клетките и наследувањето на особините итн. Во практичните истражувања тие најмногу се користат за откривање и дијагноза на болестите, а во врска со тоа посредно и за сузбивање на растителните паразити. Sprema механизмот на настанување на хроматските промени можат да се поделат во промени на постојаните пигменти, образување на темни пигменти и бела обоеност.

8.1.4.1. Хроматски промени кај постојаните пигменти

Во постојани носачи на боја спаѓаат сложени органски соединенија кои се специјализирани во оваа улога и по тоа се нарекуваат растителни пигменти. Основна одлика на овие соединенија е да се синтетизираат редовно во растителните ткива и како нивен составен дел да учествуваат во природното обојување, но и во други активности на растенијата.

Бројот на пигменти е голем и изнесува неколку стотици. Пигментите се сместени или во пластидите како посебни клеточни органели или во клеточниот сок во вакуолите. Пластидите се како носачи на зелените и другите пигменти.

Хроматски промени на хлорофилот

Хлорофилот е сместен во хлоропластите и се наоѓа во сите зелени делови на растенијата. Според функцијата хлорофилот е најважен пигмент кој ја претвора сончевата енергија во хемиска.

За вршење на фотосинтеза од која зависи и опстанокот на растителниот и животинскиот свет, постои посебно ткиво за фотосинтеза, познато како хлоренхим или паренхим. Sprema основните функции, клетките во ова ткиво се диференцираат во посебно палисадно и сунѓересто ткиво. Фотосинтеза можат да вршат и други ткива како што се: епидермалното, паренхимот во стеблото и во плодовите. Системот: хлорофил-хлоропласти-фотосинтетски клетки и ткива претставува највисок степен на организација и функционирање на пигментите во растителниот свет.

Хлорофилот е најзастапен пигмент во растенијата. Неговата количина е 3 до 4 пати поголема од каротеноидите, втора по значење група на пигменти. Се смета дека количината на хлорофилот во листот изнесува од 0,13 до 0,35 % од сувата материја. Молекулите на хлорофилот се нестабилни соединенија кои лесно се разградуваат, но исто така и синтетизираат. Динамиката на овие промени зависи од низа фактори, но обично дневно се обновува околу 10 % од хлорофилот.

Промените во количината на хлорофилот претставуваат најбројни промени во бојата на растенијата. Непосредните промени се одразуваат на промени во зелената боја, како општо распространети во растителниот свет. Посредни промени се оние кои настануваат со намалување на количината на хлорофилот, при што се воочуваат боите на каротеноидите.

Причинители на промена во зелената боја можат да бидат различни, но се групираат во физички, физиолошки, генетски и инфекциски. Физичките причинители спаѓаат во условите на надворешната средина во која се врши синтеза на зелените и другите пигменти. Промена на температурата, светлината и влагата може да предизвика разлики во количината и динамиката на синтезата на хлорофилот. Влијание на топлината врз синтезата на хлорофилот на поединечните растителни организми е нееднаков, но обично се смета дека нејзино оптимално дејство е од 26 до 30 степени.

Неповолното дејство на ниските температури се воочува кај пролетните посеви каде што листовите на ниски температури избледуваат и се хлоротични. Влијанието на ниските температури зависи од отпорноста на растенијата. Растенијата отпорни на ниски температури позеленуваат на ладно, а неотпорните пожелтуваат. Отсуството на хлорофил без сомнеж е последица на неповолното дејство на тие температури.

Во синтезата на хлорофил, светлината е една од значајните фактори. Според некои податоци, најголема синтеза на хлорофил има на осветлување од 2 500 лукса и 20 степени и во зоната на црвени светлосни зраци на спектарот. Растенијата кои се развиваат на помала светлина се хлоротични и се нарекуваат етиолирани, а самиот процес на обезбојување - **етиолирање**. Во етиолираните растенија отсуствува нормалното формирање на хлорофилот. Растењето и развојот на ваквите растенија е нарушен што доведува до неправилна хистогенеза, органогенеза и деформирање на изгледот на етиолираните растенија.

И дејството на водата како еден од абиотските фактори има големо значење за образување на хлорофилот и зелената боја на растенијата. Ова дејство настанува поради ненормалното присуство на вода во растителните клетки и ткива, како и во средината. Штетното дејство доаѓа до израз кога таа е присутна помалку или повеќе од потребното. Намалени количини на вода го намалуваат тургорот на клетките и спрема степенот и должината на недостатокот настанува намалена синтеза и обновување на обојните пигменти, што се манифестира со послаба или посилна хлороза на листот.

Зголемената количина на вода доведува до зголемен тургор, како и насобирање на вода во меѓуклеточниот простор. Ако вишокот се задржи може да се формира водено ткиво и се јавува хлороза и белеење на делови или на целото растение.

Зголемените или намалените количини на вода во надворешната средина се одразува негативно врз образување на хлорофилот и хлоропластите. При недостаток на вода во почвата настануваат хлорози и општо слабење на растенијата. Познат е фактот дека при суша растението ја губи зелената боја и почнува да се суши.

Долго задржување на вода во почвата го отежнува или го спречува коренот да ги користи хранливите материи. Последици на ваквите неповолни дејства се разградување на хлорофилот и намалено обновување и слабење на целото растение, а во потешки случаи и гушење.

Физиолошки фактори кои предизвикуваат обезбојување на зелената боја
Физиолошки промени во зелената боја се однесуваат на процесите и синтезата на хлорофилот. За синтеза на хлорофилот се неопходни хемиски елементи од кои N и Mg учествуваат во градбата на неговата молекула, а Fe, Cu, Mn и Zn служат за вршење на одредени каталитички функции во процесите на синтеза.

Недостатокот на овие елементи спречува синтеза на хлорофилот, што се манифестира како обезбојување на зелената боја. Недостатокот на азот се манифестира на почетокот на бледа боја на листови, а подоцна портокалова, црвена, а некогаш и виолетова боја.

При недостаток на магнезиум се намалува или престанува синтезата на хлорофилот поради што младото ткиво е хлорозно до портокалово или црвено. Покрај хлороза се јавува и некроза меѓу нервите.

Железото не влегува во составот на молекулата на хлорофилот, но е неопходно за негова синтеза. Оваа зависност е условена со тоа што железото е важен фактор во сите оксидоредукциски реакции кои претходат на образувањето на молекулите на хлорофил. Спечената синтеза на хлорофил поради недостаток на железо се манифестира преку хлороза. Железото и азотот влијаат и со тоа што влегуваат во градбата на хлоропластите. Слично на железото, бакарот, манганот и цинкот учествуваат во образувањето на хлорофилот и нивниот недостаток се манифестира преку хлороза. За образување на нормална зелена боја потребни се доволни количини на калциум, фосфор и други елементи (Tosic, 1971).

Врз основа на симптомите на хлороза и други хроматски промени не може да се утврди недостатокот на некој елемент иако визуелната дијагноза не е доволна. Промени во бојата можат да настанат и како недостаток на повеќе елементи истовремено.

Генетските причинители на обезбојување на зелената боја, промената на генотипот, природни или предизвикани, можат да доведат до обезбојување на зелената боја и до настанување на нови мутанти обоени од разни други пигменти. Мутираната пченка може да биде зелена, обоена и бела. Зелени мутанти се карактеризираат со обезбојување на листовите, при што се јавуваат хлоротични линии меѓу нервите. Според распоредот и јачината, постојат зелено-пругави мутанти (хлоротични линии низ должината на лиските, зебресто-хлоротични мутанти итн.).

Меѓу обоените мутанти на пченка спаѓаат и оние во кои зелената боја е заменета со жолта, па тогаш се нарекуваат жолтопругави и златножолти мутанти и др.

Бели мутанти на пченка се одликуваат со исчезнување на зелените и сите други пигменти, па на листовите и на другите делови се јавува бела боја. Овие симптоми се означени како белопругави или т.н. бели мутанти.

Паразити предизвикувачи на обезбојување на зелената боја. Паразитите во кои спаѓаат бактерии, габи, вируси и фитоплазми штетно делуваат на количината на хлорофил. Штетното дејство се изразува преку намалување на количината на хлорофил, а во ретки случаи предизвикува озеленување на некои незелени делови.

Намалување на количините на хлорофил може да настане поради проблеми во синтезата на хлорофилот, и поради ферментациско и токсично разложување на хлорофилот во текот на заразата. Промени во хлорофилот можат да предизвикаат сите паразити, но ферментното и токсичното дејство е одлика на габите и бактериите кои за разлика од вирусите имаат сопствен метаболизам, неопходен за ваков начин на дејство.

Обезбојувањето како резултат од недоволни количини на хлорофил може да биде локално или системско.

Локално обезбојување се јавува во вид на дамки со различна форма и големина. Основна карактеристика на овој вид на промени е брзото и целосно исчезнување на хлорофилот во заразените клетки. Брзото обезбојување настанува особено во случај на заболување од паразити со силно токсично дејство поради намалување или исчезнување на хлорофилот околу дамките, па доаѓа до израз друга боја на пигменти; каротеноиди, антоцијани и флаваноиди.

За разлика од локалното, системското обезбојување тече побавно. Во многу случаи овој вид обезбојување настанува како траен симптом на заразените растенија, по кои заболувањето го добило популарното име. Системско обезбојување можат да предизвикаат различни бактерии и габи, но со вакво дејство се познати фитопатогените вируси и фитоплазмите.

Потполно и општо обезбојување е одлика на вирусно заболението растенија, бидејќи вирусите кај нив причинуваат системски тип на зарази.

Системско обезбојување кај вирусните растенија се манифестира во облик на општа хлороза мозаик и шаренило на листот. Општа хлороза предизвикуваат на пример, вирусот на жолта недоразвиеност (закржлавеност) на кромидот, вирус на свиткување на листот кај компирот, вирус на жолтило кај шеќерната репка и др.

Мозаик е најчест вид на системско обезбојување на растенијата и се одликува со наизменичен распоред на хлоротични и зелени полиња со различен облик и големина на листот. Ова е најчест вид на симптоми по кој голем број вируси го добиле името мозаик на компирот, шеќерната репка итн.

Мозаикот може да се манифестира и во вид на некои посебни симптоми, па во овој случај мозаикот посебно се означува. Таков случај е свездестиот мозаик на виновата лоза, цртичкаст мозаик на компирот, прстенест мозаик кај сливата (слика 53) и др. Вирусот на шарка кај сливата, е доста проучуван вирус на нашите овоштарници под слива (сорта стенлеј и пожегача) и кај кајсијата (Mitrev et al. 2012; Kulukovska et al. 2021a; Kulukovska et al. 2021b).

Шаренилото како симптом на системско обезбојување кај вирусните растенија тешко може да се разликува од мозаикот. Најчесто се јавува во вид на хлоротични и бледи зони на површината на листот. Овие зони се со неправилен изглед и нееднакви

големини. Овој вид на симптом е присутен во името на голем број вирусни, како на пример шаренило на гравот, шаренило на каранфилот, шаренило на листот на јагодите.

Во природата за промената во процесот на озеленување нема податоци, но бидејќи се јавува во услови на системски зарази, може да се претпостави дека е заснована врз нарушување на хормонските активности кои настануваат со дејствата на паразитите во клетките на оштетените растенија (Jevremovic, 2012).



Слика 53. Мозаичното шаренило со јака изразена хлороза на лисната маса кај модра слива, симптом предизвикан од вирусот на шарка кај сливата (*Plum pox potyvirus*) (оригинална фотографија)

8.1.4.2. Хроматски промени на каротеноидите

Каротеноиди се втора група пигменти кои се сместени во пластидите на хромопластите, а се наоѓаат и во хлоропластите. Носачи се на црвена, жолта и портокалова боја. Меѓу нив најважни се алфа, бета и гама-каротен, ксантофил, лутеин итн. Се наоѓаат во листот и во другите надземни и подземни растителни органи, во кои се носители на бојата што им одговара. Улогата на каротеноидите кои се општо распространети во растението е повеќекратна. Се претпоставува дека тие го штитат хлорофилот на светлост со тоа што брзо оксидираат. Имаат одредена улога во порастот и развојот на растението, а бета-каротенот е важен извор на витамин А. Каротеноидите како помошни пигменти апсорбираат светлост во синиот и делумно во зелениот дел на видливиот сончев спектар. Количината на каротеноиди во одделните растенија зависи од нивните карактеристики и се смета дека просечно изнесува 0,1 - 0,2 % од сувата материја. Каротеноидите се синтетизираат во текот на целата вегетација, но нивната синтеза е најсилна по првиот лист до целосно развивање. Каротеноидните пигменти се развиваат по исчезнувањето на хлорофилот во површинските делови на плодовите кои созреваат. Зелената боја на плодовите преминува во жолта, портокалова или црвена. Дејството на надворешните влијанија на молекулите на каротеноидот можат да се разградуваат, но и да се обновуваат. На динамиката на нивната синтеза и содржина можат да делуваат слично како хлорофилот. Постојат различни фактори на делување кои можат да бидат од физичка, физиолошка, генетска и инфекциска природа. Од физичките фактори, светлината и топлината се од посебно значење за синтеза на

каротеноидите. Се смета дека за оваа синтеза одговара светлина со умерена јачина. Светлината со голем интензитет го смалува образувањето на овие пигменти.

Ниските температури неповолно влијаат врз образувањето на каротеноидите. Така на пример, кога во пченката се удвојува бројот на хромозомите, количината на овие пигменти се зголемува за 40 %.

Резултатите од овие испитувања на пигментите на вирусните растенија се противречни. Elmer воспоставил дека во листот на тутунот заразен со вирусот на мозаик се јавува намалување на колчината на хлорофил и ксантофил, додека количината на каротин во жолто-зелените и темно-зелените делови на ткивото се зголемува двапати.

Каротеноидите имаат значајна улога во природното боење на растенијата.

Во фазата на зреење на плодовите и опаѓање на лисјата каротеноидите стануваат пластидни пигменти кои се носачи на бојата на овие органи.

Зелените плодови во процесот на зреење добиваат црвена, жолта или слична боја. Крајот на вегетацијата настанува наесен и листовите стануваат жолти.

Слични природни промени во каротеноидното боење можат да бидат предизвикани од живи и неживи фактори. Заедничка особина на овие предизвикувачи е намалувањето на количината на хлорофил, при што другите пигменти доаѓаат до израз на различни начини. Локално и системско обезбојување на зелената боја одговара на локално или системско каротеноидно боење на растенијата. Меѓу живите фактори во овие промени на паразитни, микроорганизмите имаат посебен удел. Како што е веќе истакнато паразитите можат да ја менуваат количината и на хлорофилот и каротеноидите.

Во овие процеси учествуваат токсините на микроорганизмите кои делуваат на хлоропластите и предизвикуваат брзо изумирање на клетките. Во ваквите процеси се ослободуваат и се растворени пигменти од клеточниот сок кои се шират во заразениот ткиво и влијаат врз промената на бојата. Во некротичните процеси учествуваат биохемиските реакции кои доведуваат до создавање на посебни обоени материи во клетките и ткивата.

Промените во бојата на заразените ткива кои по изгледот обично се највоочливи, се резултат на низа сложени реакции кои во текот на заразата делуваат во клетките. За учеството на поединечни реакции на промената на бојата на заразените растенија нема доволно податоци, па и нивната улога во овој поглед тешко може да се процени. Каротеноидниот тип на промена се наоѓа во најголемиот број на заболувања на растенијата.

Учеството на каротеноидот во промена на бојата е толку карактеристично што по нив заболувањата го добиле популарните имиња: портокалова дамкавост на сливите, црвена дамкавост на бадемот итн.

Во слична група на заболувања може да се сместат и вирусите карактеристични по мозаичните промени, во кои зелената боја се променува во хлоротична жолта и црвеникава боја: мозаик на компирот, шарка на сливата итн. Во некои вирусни заболувања зелената боја целосно се заменува со жолта во поголемите делови на листот. Општото жолтило на листовите се јавуваат во случаи на некои фитоплазмози, како што се столбурот на пиперката.

8.1.4.3. Хроматски промени на антоцијаните и флавоноиди

Антоцијани и флавоноиди се растителни пигменти кои спаѓаат во глукозиди составени од фенолни состојки (аглукони) и одговарачки шеќери. Се наоѓа за разлика од другите пигменти, растворен во клеточниот сок и во вакуолите.

Антоцијаните се носачи на виолетова, сина и црвена боја на различните растителни делови. Можат да се формираат под дејството на неповолните услови на надворешната средина, што би можело да значи дека имаат заштитна реакција во таквите услови.

Флавоноидите се многу распространети во растителниот свет и имаат големо биолошко значење. Се наоѓаат во зелените растителни делови, цветови, плодови како носачи на жолта и портокалова боја. Улогата на антоцијаните и флавоноидите не е доволно разјаснета, но се претпоставува дека апсорбирајќи ултравиолетови зраци, овие соединенија го штитат хлорофилот од штетното дејство на овие зраци. Врз синтезата на антоцијаните влијаат разни причинители. Нивното дејство различно се манифестира, што значајно зависи од реактивните способности на видот на растението.

Истражувањата покажале дека антоцијаните во темно се образуваат помалку или нивното создавање може целосно да се изостави, меѓутоа постојат и случаи кога нивната синтеза во темно се зголемува или останува практично неизменета. Расадот на некои растенија може да добие црвена боја само при осветлување. Дејството на светлината е потребно за образување на некои синкасти и други пигменти во цветовите на многу растенија. Во некои растенија создавањето на овие пигменти се врши и во темно. Врз синтезата на антоцијаните, како и сложените органски соединенија, влијае и исхраната. Недоволната исхрана ја намалува синтезата на овие пигменти, а зголемената ја зголемува. Образовањето на антоцијаните е посебно забележано во растенијата по нивно механичко оштетување или од некои паразити, што укажува на одбранбената реакција на антоцијаните во некои растенија. Создавањето на антоцијани е поврзано со количината на шеќери кои тогаш се јавуваат во поголеми количини.

Истражувањата покажале дека содржината на антоцијани е поголема кај ткива без хлорофил или сиромашни со хлорофил. Куштер наведува дека со антоцијани се богати оние корени кои слабо позеленуваат или не позеленуваат.

Слично како и кај другите пигменти, генетските промени на растенијата можат да ги намалат или зголемат антоцијаните и нивните сродни пигменти. Така се на пример, некои мутанти на пченката без антоцијани и обратно, со црвен перикарп со антоцијани во алеуродните зрна.

На антоцијаните и флавоноидите подлежат промените на бојата на заразените растенија. На зелените растителни делови доаѓаат до израз по обезбојување на зелената боја и тоа заедно со каротеноидите кои се тогаш демаскираат.

Промена во бојата на плодовите на антоцијаните се карактеристични за некои вирусни растенија. Вирусот на црвенило кај праската предизвикува ненормално темно-црвено до виолетово бојење на плодовите на ова растение. Вирусот на мозаик на праската спречува правилно формирање на пигменти и на плодовите се јавува црвеникаво обојување. Во текот на зреењето на јаболките заразени со вирусот на прстенеста дамкавост се појавуваат темни дамки со црвенкасти сенки.

Кај вирусот на свиткување на листовите кај виновата лоза има изразено поцрвенување на листовите кај црвените / црните сорти, а кај белите сорти има пожолтување и свиткување на листовите, одлика карактеристична и за вирусни и за фитоплазматски промени. Освен промена во бојата на листовите, вирусите кај виновата лоза предизвикуваат нерамномерно созревање на гроздинките (слика 54).



Слика 54. Вирус на свиткување на листовите кај виновата лоза (сорта *црн бургундец*) – симптом на промена во бојата на листовите и нерамномерно созревање на гроздинките (оригинална фотографија)

Нарушувањето во антоцијаните е изразено во цветните ливчиња каде што овие пигменти се застапени. Вирусите се најбројна група паразити кои предизвикуваат вакви промени поради системски зарази кај растенијата. Вирусите во цветовите делуваат само на антоцијаните во вакуолите, а не во хромoplastите.

Промените во антоцијаните се најзастапени кај еднобојните цветови на украсните растенија. Некои вируси ги добиле имињата според симптомите: лентесто шаренило на цветовите на лалето, шаренило на цветовите на гладиолите и др. (слика 55 и 56).



Слика 55. А. Лале заразено со вирус на кршење на лале (*Tulip breaking virus*); В. Камелија инфицирана со Камелија жолт вирус на дамкавост (*Camellia yellow mottle virus*). (Valverde et al., 2012)



Слика 56. Шаренило на цветовите од лалињата (често употребувано и како уметничка карактеристика)
(<https://sitn.hms.harvard.edu/flash/2017/plants-viruses-oft-forgotten-threat-food-security/>)

8.1.4.4. Образување темни пигменти

Темни или меланоидни пигменти се сложени органски соединенија кои обично се создаваат преку врзување на хинолот со други состојки во клетките. Хинони се оксидирани облици на фенолни соединенија кои лесно се врзуваат со клеточни состојки како што се протеините.

Создавањето на темни пигменти е поврзано и со некроза на клетките која е придружена со појава на темни до црни клетки и ткива. На некрозите на клетките во вакви процеси им се препишува заштитната улога од облигатните паразити кои не можат да се развијат во ваквите процеси.

Темните пигменти се образуваат само во услови на оштетување на клетките без обзир на природата на предизвикувачите. По ваквото создавање се разликуваат од пигментите кои нормално се синтетизираат во пластидите и во вакуолите.

При создавањето на дамки на листот на тутунот, количината на хлорогенските киселини се зголемува, па се намалува, а потоа настануваат некрози. Во овие процеси се јавува под дејство на ферментот оксидаза зголемена оксидација и разградување на овие киселини. Производи на овие разградувања се хинони кои се одликуваат со висока реактивна способност и лесно се врзуваат со протеините, пептидите и аминокиселините. Со врзувањето на хинолот со состојките на цитоплазмата, како што се протеините, настанува таложење на протеините и последица на тоа е некроза и образување на темни пигменти.

Потемнувањето е придружено со ферментациска оксидација на фенолите. Хиноните како производи на оксидацијата се кондензираат во полихинонски творби или реагираат со протеините и аминокиселините создавајќи темни супстанции. Создавањето на овие супстанции е означено како ефект на потемнување.

Намалената количина на флавонол и никотин во завршните некротични процеси говори за можностите на нивно учество во образувањето на темни пигменти. Никотинот, односно производите на неговите трансформации создаваат комплекси со различни органски соединенија со нееднаква растворливост, што без сомнеж може да доведе до некроза на клетките и појава на одредени обојувања на некротичните ткива.

Во природното бојење на растенијата посебно место заземаат меланините - пигментите на црна боја. Се јавуваат како производи на сложени хемиски реакции во клетките, при што L-тирозин претставува основна супстанција за образување на индолни деривати, со чија полимеризација настануваат меланини. Создавањето на овие соединенија може да се означи и како меланоза на растенијата.

Образувањето на темните пигменти како неспецифична реакција можат да го предизвикаат фактори од живата и неживата природа. Во неживи фактори спаѓаат механичките повреди кои предизвикуваат потемнување на оштетените делови.

Потемнувањето на оштетените делови кои го предизвикуваат разни паразити може да се смета како многу распространета појава, иако механизмот на неговото настанување не е доволно познат.

Чести предизвикувачи на локални некрози се растителните вируси, како на пример вирусот на мозаикот на тутунот, вирусот на шарката на сливата, вирусот на бронзена некроза на домотот кај пиперката (слика 57 и 58) и др.

Некротираните клетки и ткива се пречка за ширење на паразитите на габите и вирусите, па имаат улога во заштитата на растенијата на овие паразити.

Во групата на предизвикувачи на потемнување на растителните делови можат да се сместат многу некротрофни паразити кои на листовите плодовите и другите растителни делови предизвикуваат разни облици на дамкавост. Овде можат да се споменат црната дамкавост на листот на домотот и компирот, сива дамкавост на листот на оревот итн.

По карактеристичните темни дамки на листот на растенијата се познати и многу бактериози: дамкавост на листот и плодот на домотот, дамкавост на листот на памукот итн. Изразито црно обојување околу дамките се јавува не само на листот на некои заразени растенија но за природата на ваквото бојење нема прецизни податоци. Во оваа група се наоѓаат болестите: катранеста дамкавост на листот на јаворот, црн рак на јабољкото, црна дамкавост на листот на дуњата, црна дамкавост на плодовите на домотот итн.

Вирусот на црната прстенеста дамкавост на дуњата предизвикува создавање на црн пигмент во кутикулата која на листот се граничи со нервите, дава чадлив изглед на површината на листот. Во оваа група за заболувања би можело да се спомене линиското црnilo на оревот. Ова црnilo настанува како последица на некроза на камбиумот и се јавува на спојот место меѓу оревот и подлогата.



Слика 57. Вирусот на бронзена некроза на домотот кај пиперката (симптоми изразени на лисната маса и на плодовите) оригинална фотографија



Слика 58. Вирусот на бронзена некроза на домотот кај пиперката (симптоми изразени на плодот и некроза на семето) оригинална фотографија

8.1.4.5. Бела обоеност на растенијата

Белото боене е едно од карактеристичните хроматски промени на заболените растенија. Може да се јави локализирано или на целиот организам: листовите, ластарите и плодовите. По изглед настанатите бои можат да бидат потполно бели, валкано бели, млечни и бронзени. По механизам на настанување постојат два типа на бело боене. Еден тип настанува со потполно разложување и исчезнување на боените пигменти, па со тоа белата боја самостојно се појавува.

Вториот тип настанува со одбивање на сончевите зраци од воздушниот слој кои се собираат во оштетените или заразени растителни делови. Воздушните слоеви на овој начин ја спречуваат апсорпцијата на сончевите зраци и затоа зелената боја на овие делови не може да се појави. Белото обојување можат да го предизвикаат и некои неживи фактори, генетски промени на растенијата, како и паразити. Од неживите фактори, ниските температури и раните мразеви можат да предизвикаат пропаѓање на клетките на мезофилот помеѓу епидермисот, па затоа настануваат симптоми прво во вид на хлоротични, а потоа бели зони по должината на работ на лиската. Вакви промени обично се неповратни и настануваат за време на ниски температури на листовите на зимните и раните пролетни посеви.

Клетките на белите и зелените ткива се сродни и водат потекло од една клетка или соседни сродни клетки. Делејќи се тие даваат два вида на клетки, бели и зелени. Промените на нормалните во бели клетки се неповратни што укажува на нивната генетска природа.

На листовите на виновата лоза се јавува бело шаренење кое се препишува на генетските промени. Бели шари од овој тип се со различен облик светла боја со јасни граници и по ова треба да ги разликуваме од сличните промени кои ги предизвикуваат некои видови вируси.

Со промена на генотипот настанале некои бели мутанти на пченка на чиј лист хлорофилот се развива неправилно, додека поголемиот дел од растението е со бела боја.

Белото боене на растителните делови може да го предизвикаат разни паразити: габи, бактерии и вируси. Според местото на појавата, може да биде ограничено околу жариштето на заразата или проширено на извесна оддалеченост. Ограниченото место што се појавува со белото обојување настанува веројатно така што паразитот со своите токсини ги разорува и умртвува клетките. Во дезорганизираниот простор навлегува воздух кој доведува до појава на бели и други слични појави. Ваквите промени на бојата обично се јавуваат на местото на заразата во вид на ореол или прстени со различен

облик и големина. Создадениот ореол не се шири, но неговите некротизирани ткива може да паднат, па на тоа место на листот се јавуваат отвори.

Слично на другите паразити и вирусите можат да предизвикаат бело обојување на растенијата. Белата боја би можела да влијае врз намалување на количината на хлорофилот и неговото исчезнување во вирусните растенија. Според симптомите на бела боја се познати повеќе вируси, како што се: мозаик на јаболкото, вирусот на мозаик кај луцерката и др.

Вирусот на мозаик на луцерката предизвикува бели листови кај пиперката (слика 59), додека листовите на некои растенија можат да бидат во облик на неправилен мозаик.



Слика 59. Вирусот на мозаик на луцерката предизвикува бели листови кај пиперката (фотографија на *Melodie Putnam, 1999*) (<https://pnwhandbooks.org/node/3235/print>)

8.2. Пропустливост на болните растителни клетки

Пропустливост (пермеабилност) е особина на клетката да прима и излучува одредени супстанции за време на размената на материјата со околната средина. Пропустливоста на клетката се базира врз нивната способност да употребуваат хранливи состојки од надворешната, средина како единствен извор на тие состојки. Со пропустливоста на клеточната органела се овозможува движење и пренесување на разни состојки во клетките кои учествуваат во нејзината биохемиска и физиолошка активност.

Живите клетки и нивните органели го управуваат механизмот на сопствената пропустливост, така што бираат супстанции кои ги пропуштаат и го одредуваат редоследот на нивното пропуштање. Вака контролираната пропустливост се означува како селективна пропустливост (полупропустливост, семипермеабилност) на клетката.

Селективната пропустливост е активен процес кој се случува и спротивно од правилата на пропустливост од неживата средина, па за нејзиното извршување е потребна соодветна потрошувачка на метаболичка енергија. Неповратното (иреверзибилно) губење на селективната пропустливост претставува смрт на клетката.

Пропустливост (примање и излачување) на одредени супстанции е функција која ја извршува клеточната мембрана. Цитоплазматската мембрана (плазмалема, ектопласт) учествува со својата селективна пропустливост во размена на материјата со надворешната средина. Размената на материјата во клетката, помеѓу нивните органели, ја извршува внатрешната клеточна мембрана, како што се: тонопласт (мембранска вакуола), мембрана на ендоплазматската мрежа, пластиди, митохондрија, диктиозоми и др.

Објаснувањето на механизмот на селективна пропустливост е нерамномерно и во него постојат три теории: **теорија на мембрана, апсорпција и цитоза**. Според некои толкувања, оваа теорија треба посебно да се разгледа заради комплетно согледување на штетните последици на патолошката промена во функцијата на клеточната мембрана.

1. Теоријата на мембрана се состои во тоа што функцијата на селективната пропустливост управува претежно само со мембраната во клетката. Така, плазмалемата управува со движењето на материјата помеѓу клетката и надворешната средина, а внатрешната мембрана врши иста функција во клетката, но истовремено обезбедува и просторна поделеност во внатрешноста.

2. Според теоријата на апсорпција, селективната пропустливост управува со растворливоста на супстанции во протоплазматска течност и нивното апсорпциско и хемиско врзување со клеточните колоиди, отколку со мембраните.

3. Според теоријата на цитоза, движењето на материјата се врши во кружење и за пренесување помагаат посебни цитоплазматски тела, познати како везикули (меурести израстоци во вид на ќеси). На овој начин можат да бидат пренесени и цврсти (фагоцитози) и течни (пиноцитози) делови. Сите овие теории имаат извесна вредност, но теоријата на мембрана денес е прифатена од најголем број истражувачи.

Во согласност со овие теории, може да се толкува и механизмот на движење во селективната пропустливост на заразени и оштетени клетки. Според мембранската теорија, движењето во пропустливоста на клетките се претежно, ако не и целосно, последица на структурни и функционални промени кои во патогенезата настануваат на мембраната на болните клетки. А пак, според теоријата на апсорпција, губењето на водата и растворот од заразените клетки предизвикуваат промена во особините на внатрешните колоиди и на водата пред да настанат промените на клеточната мембрана.

Според теоријата на цитоза, објаснувањето за промена на пропустливоста може да се сведе на способност на цитоплазмата и нејзини органели да прават внатрешни (ендоцитоза) или надворешни (егзоцитоза) меурести тела кои учествуваат во движењето и пренесувањето на цврсти и течни супстанции во клетката. Од фитопатолошко гледиште, како што изгледа, теоријата на мембрана обезбедува, засега, најкомплетно објаснување за општото движење во селективната пропустливост на заразената клетка, како и за најтрагичните последици од тие нарушувања кои доведуваат до смрт на клетката.

Мембраните претставуваат основни градежни и функционални тела во клетката. Како градежни тела тие ги опфаќаат протопластот, вакуолата и клеточната органела, на тој начин ја дели внатрешноста на клетката на голем број специјализирани делови во кои се просторно одвоени и извршуваат специфични метаболички процеси. Нивната огромна површина во клетката претставува реактивен простор со кои мембраната, директно или индиректно, учествува во сите или скоро сите животни процеси на

клетката. Внатрешните клеточни делови, не само што селективно примаат и излучуваат разни соединенија во размената на материја со околната средина туку и со своите вградени (интегрални) или врзани ферменти учествуваат во метаболичките процеси на клетката. Општата функционалност на мембраната се заснова врз нејзината селективна пропустливост, а со тоа и нарушувањата во нивната полупропустливост, што е општ и најсигурен показател на виталност на клетката.

Селективната пропустливост на клетката се менува за време на развојот, како и дејството на надворешните неживи и живи фактори. Младите клетки се одликуваат со голема селективна мембрана која се зголемува, додека клетката не се подели во целост. Старите клетки имаат помала селективност, која целосно се губи со смрт на клетката. Неживи фактори (топлина, промена на pH, јонизирачко зрачење и др.), предизвикуваат повреда на клетката, ја зголемуваат пропустливоста на мембраната. Во живи фактори кои ја зголемуваат пропустливоста на мембраната и ја менуваат нејзината селективност спаѓаат растителни паразити од сите таксономски групи.

Растителните паразити, што во патогитозите промени (цитолитички промени, структурни промени) се спомнати, со своите ферменти, токсичното и механичкото дејство причинуваат хемиски и структурни промени на мембраната кои доведуваат до нивна делумна или целосна нефункционалност. Треба да се има предвид дека само неоштетените мембрани се функционално способни. Индиректна последица на паразитното дејство е промената на физички и хемиски особини на мембранскиот систем, што се искажуваат со зголемена егзоосмоза (испуштање) на неоргански соли и органски соединенија од клетката.

Изменетата пропустливост на клетката, како карактеристика на заразените растенија од голем број паразити, е утврдена пред 40 години. Спрема овие автори, изменетата пропустливост е утврдена во заразените клетки на разни паразити, како што се: *Puccinia graminis tritici*, *Uromyces fabae*, *Phytophthora infestans*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium lucopersici* и др. Подоцнежните проучувања откриле дека променетата пропустливост се појавувала и во клетките на бактериозни и вирусни растенија (Арсов и Митрев, 2017).

Неколку автори го проверувале и степенот на зголемување на пропустливоста со методот испарување на излачените органски материи, како и методот на електрична спроводливост во заразените клетки и ткива (Арсов и Митрев, 2017).

Цитоплазматската мембрана и мембраната на клеточната органела се одликуваат со електрохемиски потенцијал кој настанува од различните јони, нееднакво распоредени на двете страни на мембраната. Помеѓу мембраната и околната средина постои разлика во електрохемискиот потенцијал. Таа разлика се покажува и помеѓу внатрешноста на клетката и надворешната средина, при што внатрешноста на клетката е електронегативна, а надворешната средина е електропозитивна. Разликата во електрохемискиот потенцијал помеѓу внатрешноста на клетката и нејзината околна средина се мери со внесување на врвот од една електрода која се држи во надворешен раствор. Разликата во потенцијалот, мерена на овој начин, достигнува значајна величина и во растителните клетки се движи од -50 до -150 mV. Во нормална ситуација клеточните мембрани се способни да пропуштаат јони во спротивен градиент (степен) на густина и одржување на разлика на електрохемискиот потенцијал од една и друга страна на мембраната, како и помеѓу внатрешноста на клетката и нејзината надворешна средина (Арсов и Митрев, 2017).

Заразените клетка и ткиво, поради зголемената пропустливост, излучуваат (ослободуваат) електролити во надворешната средина и со тоа го нарушуваат и намалуваат мембранскиот потенцијал. Ослободените електролити ја зголемуваат електрична спроводливост во својата средина, која може да се одреди со непосредно мерење во здравите и заразените ткива, како и во секретот на листовите и во излачените електролити од потопеното ткиво во дестилирана вода. Намалениот електричен потенцијал на клетката и нејзината зголемена електрична спроводливост значи дека со сигурност има изменета селективна пропустливост на клеточната мембрана (Арсов и Митрев, 2017).

Со промените во структурата и функцијата на мембранскиот систем се поврзани и вискозитетот на протопластот. Вискозитет е внатрешно триење на честичките во протопластот кое настанува со поврзување на нивните макромолекули. Врските помеѓу макромолекулите во протоплазмата се различни и непрекинато делумно се раскинуваат и воспоставуваат. Вискозитетот на протоплазмата зависи од староста на клетката, а врз него влијаат и разни услови на надворешната средина. Во младите клетки со силна метаболичка активност, вискозитетот е помал (протоплазмата е течна), отколку во старите клетки. Температурата, светлоста, концентрацијата на H^+ јони и други фактори влијаат врз врската помеѓу макромолекулите, што непосредно се одржува во измена на вискозитетот на протоплазмата.

Спротивно од намалувањето на вискозитетот на протопластот, вискозитетот на клеточниот сок се зголемил во третираните ткива. Во осетливите растенија вискозитетот на клеточниот сок бил зголемен во текот на 44 часа по третирањето за 3,5 пати. Во отпорните растенија настанало незначително зголемување на вискозитетот 30 минути по третирањето, а понатаму вискозитетот не се менувал. Овие податоци покажуваат на способноста на ткивата од отпорните растенија да се спротивставуваат на процесите кои го менуваат вискозитетот во клетката.

Изменетиот вискозитет неспорно доведува до нарушување во движењето на цитоплазмата, а со тоа и нарушување во преносот на потребни материи за биохемиски процес во клетката.

Промените на физичко-хемиските особини на протопластот – селективна пропустливост, електрична спроводливост и вискозитет – укажуваат на цела сложеност на различните поврзани процеси во заразените клетки. Измените во селективната пропустливост на мембранскиот систем, особено ако тие се неповратни (иреверзибилни), се истакнуваат како фатални бидејќи ја доведуваат клетката до неминовно изумирање. Меѓутоа, во вкупното дејствување не може поедноставно да се рече дека промената на селективната пропустливост на мембраната е причина или последица на други изменети физичко-хемиски особини на протопластот. Во секој случај, способноста на паразитот да ја менува пропустливоста на мембраната, директно или индиректно, претставува најважно оружје за напад на паразитот кое му овозможува да употребува присутна материја во клеточниот растителен домаќин за сопствена исхрана и развој.

8.3. Количина и движење на водата во болните растенија

Животот настанал во вода и со неа, без оглед што живиот свет се развивал и менувал, останал непрекинато поврзан. Цела организација на клетката, нејзината градба и активност, се заснова на задолжително присуство на вода. Копнените растенија, за време на својот развој, усвојиле посебни ткива и механизми кои се обезбедени со вода, одржувајќи на тој начин единство на водата и животот.

Градбата и функционалноста на клетката се заснова врз присуството на одредена количина на вода и нејзиното движење во клетката, ткивата и растителниот организам.

Според количината, водата е најобилна состојка што ја има во клетката: се наоѓа во сите нејзини делови: клеточниот сид, цитоплазмата и јадрото. Во клеточниот сид водата е врзана за нејзините основни супстанции (пектински материи, целулоза и хемилцулоза) и изнесува најмалку 50 % од нивната тежина. Протоплазмата на растителната клетка содржи, освен во некои исклучоци, 75 до 95 % вода; во вакуолите се наоѓа околу 30 % од вкупните количини на вода во клетката.

Во клетката, водата се наоѓа во врзан и слободен облик. Врзаната вода претежно е дел од протоплазматската градба и изнесува од 4 до 7 % од вкупната количина на вода во клетката. Во оваа градба таа учествува со својот дипол со кој се врзува за молекуларните протеини, така придонесува за одржување на нормална физичка состојба и организација на протоплазмата. Најголема количина на вода во клетката

претставува слободната (неврзана) вода и нејзината улога е повеќекратна. Таа служи како дисперзирана средина во која се одржува колоидниот систем на протоплазмата. Извонреден растворувач е на многу неоргански и органски соединенија, а со своето движење ги пренесува овие соединенија во клетката. Водата, исто така, учествува во разни биохемиски процеси на клетката. Според своите одлики, водата претставува идеална средина за метаболитичките процеси во клетката.

Вишите растенија, посебно копнените, своите потреби за вода ги обезбедуваат со донесувањето на вода од земјиштето. Патот на движење на водата започнува во земјиштето кон коренот на растенијата и продолжува низ ткивата на коренот, па и понатаму, низ должината на ксилемот на листот; со испарување во меѓуклеточните простори на листот поминува во облик на водена пара низ стомините отвори во атмосферата, каде што го завршува својот започнат пат на движење. На овој начин, земјиште - растение - атмосфера претставува систем на бескрајно кружење на водата, како услов на опстанок на секој растителен организам и живот воопшто.

Движењето на водата во системот: земјиште - растение - атмосфера се базира врз енергијата на подвижноста на молекулите на вода. Оваа енергија е најголема во чистата вода врз која, освен земјината гравитација, не делува друга сила. Енергијата на движење на молекулите на вода се намалува доколку врз неа влијае друга сила која потекнува од растворени соединенија, апсорпциската активност на колоидните состојки итн. Слободната енергија од присутните молекули на вода се означува како потенцијал на водата. Состојбата на водата во растението се изразува на најдобар начин, со водениот потенцијал кој ја претставува разликата помеѓу слободната енергија на вода во растението и слободната енергија на чистата слободна вода. Движењето на водата во земјиштето низ растителниот организам до атмосферата се врши со правец од поголем кон помал воден потенцијал, каде што непрекинато се врши губење на водата за време на транспирацијата (Арсов и Митрев, 2017).

Молекулите на вода се движат со дифузија и вршат притисок кој се означува како дифузен притисок. Јачината на дифузниот притисок одговара на одредената количина на слободна енергија. Движењето на вода се врши во правец каде што дифузниот притисок е помал, па според тоа може да се зборува за законитостите во движење на вода во растенијата.

Врз вкупната состојба на вода во растението влијае и нарушувањето на растението и апсорпцијата на вода, движењето на водата во растението и транспирацијата на растението (Арсов и Митрев, 2017).

8.3.1. Промени во апсорпцијата на вода во растителните корени

Растителните корени, како што е познато, вршат апсорпција на вода во земјиштето и на тој начин му обезбедуваат на растенијата, особено на копнените, потребна количина на вода. Врз апсорпциската способност на клетката влијаат разни абиотски и биотски фактори. Значајни абиотски фактори во овој поглед се: количеството на вода во земјиштето, аерација и температура на земјиштето, како и составот и концентрацијата на земјишниот раствор. Врз апсорпција на коренот влијаат многу штетници и паразитни микроорганизми кои нормално живеат во земјиштето, го оштетуваат кореновиот систем и делумно или целосно ја нарушуваат неговата функционалност.

Некрозите на садовите на коренот на виновата лоза предизвикуваат вирус на инфективна дегенерација, а некрозата на садовите на коренот на шеќерна репка - вирус на некротично жолтило на нервите (ризоманија) на шеќерната репка. Додека пак, некрозите на клетките на коренот во зоната на примање на водата значи делумно исклучување или прекин во текот на снабдување на вода, при што движењето на слободната енергија на водата од земјиштето во растението е прекинато и неискористено.

8.3.2. Промени во движењето на вода во растението

Водата во растението се движи по непрекинат пат, кој, по својот специфичен облик, може да се подели во три дела: 1) движење на вода во ткивото на коренот, 2) движење на водата во ксилемот и 3) движење на водата во ткивото на листот. Она што влијае врз количината на вода и брзината на нејзиното движење на овој пат се отпорноста во клетката и ткивата низ кои водата поминува.

При движењето на водата низ клетката, отпорноста се појавува како во живите така и во неживите делови. Во деловите на клетката кои се означуваат како симпласт (плазмалема, цитоплазма и вакуола), општо земено, отпорноста е поголема од отпорноста во неживиот дел – апопласт (клеточен сид, меѓуклеточни простори, внатрешни простори на мртви клетки).

а. Промена во движењето на вода во ткивото на коренот

Примањето на вода и хранливи материи од земјиштето се врши во зоната на растење на коренот, која како што е познато, постојано се формира со делбата на коренските трајни ткива. Активната површина за примање на водата во оваа зона ја сочинуваат клеточниот ризодермис (покоричното ткиво на коренот). Од оваа клетка водата се движи низ клеточната примарна кора сè до централниот цилиндер, каде што пристигнува во ткивото на ксилемот.

б. Промена во движењето на водата во ксилемот

Кога ќе пристигне во ксилемот од централниот цилиндер на коренот, водата го продолжува своето движење во должина на спроводните елементи (трахеи и трахеиди) сè до клеточното паренхимско ткиво во листот. Ова е најдолгиот пат за движење на водата во растението.

Неколку автори го испитувале и влијанието на спроводните паразити на движење на водата во заразените растенија. Методолошки ова истражување е обично следење на отпорот во движењето на водата низ извадоците (сегменти) на заразеното стебло. Според овој метод е установено дека отпорот во движењето на водата на вертицилиозното стебло на домотот е 200 пати поголем од отпорот во здравите растенија. Обично е установено дека спроводните паразити го зголемуваат овој отпор во делови на стеблото од 4 до 60 пати (Арсов и Митрев, 2017).

Зголемената отпорност во движењето на водата во ксилемот е последица од намалувањето на волуменот (дијаметар) на заразените спроводни елементи. Врз намалениот волумен можат да влијаат повеќе фактори. Овде треба да се истакне неспорната улога на самата хифа – спроводна габа и клеточната спроводна бактерија. Освен со физичкото присуство, овие паразити можат да го намалат волуменот на спроводните елементи и со своите метаболити, како што се полисахариди и вонклеточни ферменти. Полисахариди што ги создаваат и габите и бактериите често се опишувани како токсини на венење. Меѓутоа, како што е познато, овие се соединенија со висока молекуларна тежина, па можат повеќе да се сметаат како супстанции за затнување на садовите отколку токсини на клетката.

Неспорно е дека значајно место во затнувањето на садовите има образувањето на гумени материи (гумози) и тили (тилоза) во спроводните елементи. И гумозата и тилозата се реакција на живите паренхимски клетки на ксилемот и клетката што содржи воздух околу садовите. Гумозните супстанции настануваат во процесот на изумирање на овие клетки, во спроводните елементи продираат низ отворите кои ги поврзуваат со околните паренхимски клетки. Овие супстанции, со различен изглед, ги затнуваат садовите и го намалуваат нивниот дијаметар.

Тилите се образуваат со издолжувањето на мембраната во соседни паренхимски клетки низ отворите (пори) на спроводните елементи, градејќи во нив изросток со меурест изглед. Тилите можат да бидат толку големи и многубројни, па во целост да ги затнат спроводните елементи.

Затнатите садови, гуместите материи и тилите го зголемуваат отпорот во движењето на водата, со што се намалува енергијата на движење на водата (воден потенцијал) во ксилемот. Во која мера ќе биде намалено протекувањето на вода во спроводните елементи ќе зависи од бројот и распоредот на гумози и тили во овие елементи.

в. Промени во движењето на вода низ ткивата во листовите

Преку ксилемот водата стигнува до главните нерви на листот, од каде што се распоредува во мрежа на ситни нерви и поединечни садови. Од спроводните елементи, водата прво навлегува во клетката и транспирацијата воопшто. Патолошките промени во транспирацијата можат да настанат индиректно, со делување на паразитни микроорганизми на структурата на стомините клетки, и директно, со попречување на примањето и движењето на вода во растението.

Нарушување во количината на водата и на нејзиното движење во растенијата се јавува како општа патолошка појава на сите болни растенија. Овие нарушувања можат да настанат на сите делови по патот каде што се движи водата, од нејзиното примање од земјиштето до испарувањето од листот. Механизмот на нарушување е различен и зависи од типот на паразитот и реакцијата на растението домаќин. Заразените клетки и ткива, структурно и физиолошки изменети, ја губат сопствената контрола во примањето и спроведувањето на водата, поради што се намалува степенот на нејзиното искористување. Основната последица од нарушувањето во снабдувањето со вода се намалената и ненормалната биохемиска активност на клетката, недостаток во минералната исхрана на растението и нивната недоволна подготвеност за опстанок во условите на животната средина.

8.4. Минерална исхрана на болните растенија

Минералната исхрана се состои од низа процеси во кои растенијата ги внесуваат минерални елементи во својот организам. Таа спаѓа во основните функции со кои се одржува животот на растенијата. Значењето на минералната исхрана се изразува преку улогата што ја имаат хранливите минерални елементи за време на онтогенетскиот развој на растенијата.

Минералните елементи се неопходен материјал кој учествува во градбата и метаболизмот на клетката. Тие се неопходни во клеточните состојки, неоргански и органски соединенија, ферменти итн. Многу од нив учествуваат во функцијата на клетката како коферменти, пуфери, во одржувањето на внатрешниот осмотски притисок и пропустливоста на клетката. Со својата активност учествуваат како активатори, инхибитори и регулатори на метаболитичкиот процес во клетката.

Според улогата која ја имаат во развојот на растенијата, минералните елементи можат да се издвојат на неопходни (K, P, S, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, B; Mn, Mo, Co) и корисни (Na, Cl, Si). Само три од овие елементи (K, B и Cl) не претставуваат градежни состојки на клетката, но во неа имаат одредена функција.

Од фитопатолошко гледиште значаен е факторот дека растенијата внесуваат минерални елементи во својот организам со апсорпција на јони со помош на коренот од растворот на земјиштето. Апсорпцијата на јони ја извршува делот на коренот, под кореновиот врв. Значаен дел од овие јони може да навлезат и низ плутестиот дел (во близина на врвот на коренот), со дифузија низ лентицелите и низ отворите кои настанале со угинувањето на страничните корени.

Минералните елементи се внесуваат во неколку последователни фази: движење (стигнување) на јоните на површината на коренот, збирање на јоните во клеточниот корен, радијално пренесување на јоните во ксилемот и пренесување на јоните од коренот во ластарите. Спроведени од страна на сокот во ксилемот, јоните стасуваат во лисните нерви, од каде што продираат во меѓупросторите на мезофилот. Во меѓуклеточниот простор во листот, клетката со апсорпција ги внесува во својата цитопазма. Собрани во цитоплазмата, јоните понатаму се пренесуваат од клетка во клетка со протокок низ плазмодезмите – симпластично движење на јоните. Ако клетката во листот прими повеќе минерални материи отколку што ѝ е потребно, тој вишок се прераспоредува низ флоемот во други растителни ткива и органи (Арсов и Митрев, 2017).

Минералната исхрана, како трајна и непрекинлива функција на растението, претставува бескраен кружен тек на минералната материја во природата. Кружењето почнува со внесување на минералните материи во растението од земјиштето (надворешната средина), продолжува со вклучување на овие материи во градбата и метаболизмот на клетката и завршува со нивно враќање во земјата по угинувањето и разградувањето на растението. Врз текот и динамиката на кружењето на овие материи во природата влијаат разни надворешни неживи и живи фактори.

Растителните паразити можат значајно да влијаат врз кружењето на минералните материи во процесот на растителната исхрана. Штетното дејство на паразитите и другите микроорганизми може да се појави на разни делови во кружниот пат на овие материи. Прво, попречувањето може да настане во искористувањето на минералните материи во ризосферата, потоа во намалената апсорпција на коренот, во намалената моќност на растението во преносот на овие материи и, на крајот, во намалената способност на клетката да ги користи овие материи нормално. Во сите овие фази на исхрана на растението попречувањето е различно.

8.4.1. Промена во апсорпцијата на минерални материи

Основната активност на коренот е од земјиштето да ги зема растворените минерални и другите хранливи елементи во растението, каде што се вклучуваат како градежен функционален материјал. Оваа активност на коренот се извршува по пат на апсорпција. Моќта на апсорпцијата на хранливи елементи се базира врз големата површина на развиениот коренов систем и неговата распространетост во земјиштето.

Врз интензитетот и енергијата на апсорпција влијаат разни фактори во земјиштето. Посебно штетни во овој поглед можат да бидат паразитите на коренот, како и животинските организми.

Општата особина на паразитот на коренот е да ја намалува, делумно или целосно, неговата апсорпциска површина и на тој начин да ја намали и способноста на апсорпција на хранливите елементи: калиум, фосфор, магнезиум, калциум, натриум итн. Патолошките промени на коренот, од паразитна природа, штетно се одразуваат на апсорпцијата на тешко пристапни (фосфор) хранливи елементи од земјиштето.

Меѓу промените кои паразитот ги причинува на коренот, за апсорпцијата се особено штетни: некрозата, разградувањето и фрагментацијата (неразвиеност) на коренот.

- Некрозите се особено подложни на младите жили на коренот кои се најактивни во апсорпцијата на хранливи елементи. Делумната или целосна некроза на жилите предизвикува, на пример, вирус на некротично жолтило на нервите (ризоманија) на коренот на шеќерната репка, а во услови на рана зараза предизвикува корените да бидат многу неразвиени. Фитоплазмата столбур прво предизвикува некрози на жилите, а подоцна и на целиот коренов систем на пиперката. Нарушувањата во исхраната доведуваат до застој во порастот на растенијата со помалку или повеќе намалување на нивниот принос.

- Разградувањето на коренот што се јавува кај некои растенија во вид на гниење и распаѓање, особено е штетна патолошка промена за апсорпциската активност на кореновиот систем. Разградување на коренот вршат, помалку или повеќе, сите паразити на коренот, а според степенот на оштетување се намалува нивната вкупна сила во апсорпцијата на хранливи елементи. Според некои истражувања, на овој начин, земјишните растителни паразити и нематодите можат да ја намалат апсорпција од 5 до 10 % во сериозни случаи на болест, што зависи од земјишните услови, активности на микроорганизмите и пристапноста на хранливите материи (Hueber, 1978).

- Неразвиеноста на коренот е, исто така, едно од значајните нарушувања со штетни последици на изменета и намалена исхрана на растенијата. Таа се јавува во процесот на ненормално настанување и диференцијација на клетката во фаза на нивен интензивен пораст. Воопшто, се смета дека сите паразити (габи, бактерии и вируси) можат да го спречат нормалното образување на коренот, а со тоа и да ја намалат неговата апсорпциска површина. Влијанието на паразитот врз големината на коренот е различно, што зависи од врстата на паразитот, осетливоста на коренот, а особено од фазата на неговиот развој кога ќе се зарази.

8.4.2. Промени во преносот на минерални материи

Сите минерални елементи, неопходни за градба и за биосинтетските процеси, единствено се пренесуваат со движењето на соковите во ксилемот. За извршување на вакви функции, ксилемот е изграден како специфично сложено ткиво.

Во ксилемот, сепак, се развиваат разни паразити, а пред сè габи и бактерии познати како спроводни или трахеифилни паразити. Во спроводното ткиво овие паразити хемиски ги разградуваат состојките на клетката, а токсините предизвикуваат нивни некрози. Ваквите нарушувања го спречуваат или исклучуваат ткивото на ксилемот во нормалното снабдување на растителниот организам со потребните хранливи елементи.

Посебна препрека во пренесувањето на минерални материи претставуваат тили и смолестите материи кои се образуваат во трахеите и трахеидите на заразениот и оштетениот ксилем. Тилите и смолестите материи, присутни во спроводните елементи, го отежнуваат или ја оневозможуваат основната функција на овие елементи.

Структурно изменетата клетка на ксилемот, како и делумно или целосно затнати спроводни елементи, го попречуваат или го спречуваат асцендентното движење на минералните материи до местото на нивното користење во растението. Поради тоа во заразените растенија се појавува недостаток од минерални елементи и азот, иако можеби ги има доволно во земјиштето. Во заразениот лист на домотот со вирусот на мозаик на тутунот значајно се намалила (до 50 % сува материја) количината на манган, бакар и цинк, а немало влијание или само слабо врз количеството на калиум, калциум, магнезиум, железо, бор и алуминиум. Не е утврдено дали промените на количините на овие елементи настанале поради намалената апсорпција на коренот или поради попречувањето на преносот до листовите (Арсов и Митрев, 2017).

На крајот, општ симптом на нарушување во пренесувањето на хранливи елементи и ненормална исхрана се слабо плодносење и брзо угинување на неисхранетите растенија.

8.4.3. Промени во искористување на хранливите материи во клетката

Во меѓуклеточниот простор минералните јони стигнуваат во цитоплазмата, во која можат да се користат како градежни и како метаболитички материјал. Во цитоплазмата се пренесени јоните низ клеточната мембрана и спротивно од законите на степенот (градиент) на концентрацијата, при што за вакво движење треба да се потроши посебна метаболитичка енергија.

Врз степенот на користење на хранливите елементи во клетката влијаат разни фактори меѓу кои се издвојува селективната пропустливост, клеточната мембрана и имобилизацијата на јони во заразените и неконтролираните ткива.

- Пренесувањето на јоните од надворешната средина во клетката се одвива по пат на селективна пропустливост на плазмалемата. Секое нарушување во градбата на плазмалемата влијае врз нејзината пропустливост. Само нештетните клеточни мембрани се функционално способни. Трајно и неповратно нарушување на селективната пропустливост доведува до неминовно умирање на клетката.

Селективната пропустливост, како што покажале повеќе автори, може да ја сменат разни фактори. Растителните паразити со своите ферменти, токсични и механички дејства можат хемиски и структурно да ја менуваат клеточната мембрана, што покажува во одреден степен и нивна нефункционалност.

Промената во пропустливоста на мембраната на паразитите им овозможува полесно да ги користат хранливите состојки од заразените клетки за сопствен развој и одржување. Тие се јавуваат како општа појава во процесите на заразување на клетката. Со промените во пропустливоста на мембраната настануваат и промени во електричниот потенцијал на мембраната, вискозитет на протопластот и др., кои се вбројуваат во најштетни патоцитолошки појави.

Повеќето од минералните елементи, како што е познато, се искористуваат неколку пати во животот на растението. Меѓутоа, во некои случаи доаѓа до собирање на овие елементи на поединечни места каде што остануваат надвор од употреба (имобилизација на хранливите материи).

Собирањето на минералните материи се зема како општа појава во врска со заразените и неконтролирани места на растенијата. Ваквите собрани материи придонесуваат за нарушување во протопластот на клеточната мембрана. Значително поголемата количина на овие материи може да делува токсично на присутниот паразит. Исто така, може да ја поттикне и активноста на секундарното меристемско ткиво кое обично настанува околу местата на зараза и тука се создава секундарно заштитно плутесто ткиво. Собраните минерални материи и нивната имобилизација се штетни за исхрана на растенијата, но можат да претставуваат и механизам во одбрана на растенијата од напад на паразитите (Арсов и Митрев, 2017).

8.5. Фотосинтеза на болните растенија

Во процесот на фотосинтеза зелените растенија синтетизираат јаглехидрати со помош на сончевата енергија, користејќи како суровина јаглерод диоксид (CO_2) и вода (H_2O) од надворешната средина.

На врзувањето на енергијата од сонцето, во фотосинтезата се заснова создавањето на целокупната органска материја на автотрофните и хетеротрофните организми. Имајќи го превид ваквото значење, фотосинтезата од секогаш го привлекувала и го привлекува вниманието на биолозите, биохемичарите, биофизичарите, цитолозите, физиолозите и многу други истражувачи.

Заразата на растенијата со паразити може значајно да влијае врз фотосинтетските процеси. Многу испитувања покажале дека нарушувањата во фотосинтезата се јавуваат како општа појава во заразените растенија. Патолошките

промени во фотосинтезата претставуваат еден од најзначајни предмети за истражување на фитопатолозите и биолозите воопшто. Патолошките промени можат да настанат во различни фази на фотосинтетскиот процес. За нивно подобро разбирање и лесно следење, ќе биде корисно овде кратко да се прикажат некои одлики на фотосинтетскиот процес.

8.5.1. Фотосинтеза на растенијата

Основните процеси на фотосинтезата се состојат од апсорпција на сончевата светлосна енергија, преобразба на апсорбираната сончева светлина во хемиска енергија и користење на оваа хемиска енергија за пренесување на јаглерод диоксид (CO_2), усвоен од атмосферата, во јаглехидратен облик.

Апсорпцијата на сончевата светлина ја вршат голем број молекули на разни соединенија. Со способноста за ваква апсорпција, особено се одликуваат молекулите на разни пигменти (боени материји) во фотосинтетските клетки. Меѓу пигментите главна улога во апсорпција на сончевата светлина имаат зелените пигменти – хлорофил. Апсорпција на сончева светлина во фотосинтетските клетки вршат, од страна на другите пигменти, и каротеноидите, кои, за разлика од хлорофилот, се нарекуваат помошни или споредни пигменти.

Апсорбените фотони (најмалото делче од бранот на сончевата светлина), се електрони како составен дел на атомската градба на молекулите. Електроните кои се електронегативни кружат, како што е познато, на разни патеки околу електропозитивното јадро (нуклеус) на атомот. Во постојаните (стабилни) атоми, бројот на електронегативните електрони на разни патеки е еднаков со бројот на позитивно наелектризираните во јадрото. Електроните енергетски се разликуваат, што зависи од оддалеченоста на нивните патеки од јадрото, електроните со блиски патувања се одликуваат со мала енергија на движење, за разлика од електроните оддалечени од атомското јадро.

За еден електрон како електронегативна честичка да замине од електропозитивно јадро, потребна е надворешна енергија. Таа надворешна енергија ја прави апсорбираниот фотон на сончевата светлина. Електроните кои заминале на надворешни патеки тежнеат да се вратат во својот ред на патеката, па според тоа таквиот атом е во нестабилна состојба, раздрзлив (ексцитација). Враќањето на електроните од патеката со поголема енергија на патеката со помала енергија ослободува енергија (апсорбирана од фотонот на сончевата светлина) во облик на светлосна енергија (флуоресценција), со истовремено враќање на молекулата во својата почетна, постојана состојба.

Во хлороплатите на зелените растенија апсорбираната сончева енергија се претвора во хемиска енергија со процесот на фотосинтетска фосфорилација, познат и како фотофосфорилација, при што се образува енергија богата со соединенија аденозин–трифосфат (ATP) и NADPH (намалени никотинамид–аденин–динуклеотид-фосфат). Деталите на овој процес имаат краток преглед во следната изложеност.

Високо енергетските електрони од ексцитарните молекули на хлорофилот ги напуштаат патеките на овие молекули и се пренесуваат (во хлоропластот) на голем број преносливи соединенија за електроните низ соодветни оксидоредукциски ферменти. Отпуштените електрони, богати со енергија, во тој премин примаат ферредоксин и преминуваат во редуциран облик; редуцираниот ферредоксин ги предава електроните на следниот примач (ацептор), најверојатно флавопротеинот, кој го предава на цитохром б и цитохром ф. Преносот на електрони се врши на основната разлика во редокс-потенцијалот на соединение – учесник во преносниот систем. Според овој автор, секој пар со иста вредност (еквивалентен) електрони кои ги напушта молекулата на хлорофил ослободува, со својот преносен пат, најмалку 20 930 џули енергија, пред да се врати повторно во молекулата на хлорофилот. На овој начин ослободената енергија

од електронот се вградува како хемиска енергија во соединението ATP и NADPH (Арсов и Митрев, 2017).

Кружниот тек на електроните во електронскиот преносен систем на фотосинтетската фосфорилација може да биде цикличен и нецикличен. Во цикличната фосфорилација електроните кои го напуштаат хлорофилот, бидејќи го поминуваат целиот систем на преносни соединенија, се враќаат повторно во молекулата на хлорофилот. На секој пар електрони кои поминуваат ваков пат им се образуваат две молекули ATP од аденозин-дифосфат (ADP) и фосфат. Во цикличната фосфорилација продолжува само ATP, како енергетски богато соединение.

Во нецикличната фосфорилација во хлоропластите на фотосинтетските клетки се образуваат како енергетски соединенија NADPH и ATP. Испуштените електрони од иритираните молекули на хлорофил се пренесуваат на фередоксин и го редуцираат, како и во цикличната фосфорилација. Од редуцираниот фередоксин електроните понатаму се пренесуваат на пиридински нуклеотид (NADPH⁺, никотинамид-аденин-динуклеотид-фосфат), па затоа преоѓа во својот редуциран облик (NADPH). Во редукција на NADPH⁺ електроните се потрошени, па затоа не се враќаат во молекулата на хлорофилот, за разлика од цикличната фосфорилација.

Хлорофилот ги надополнува, во овој случај, своите изгубени електрони со примањето електрон од молекулата на хлорофил б од претходно ексцитирани фотони. Помеѓу овие два пигмента, електроните се пренесуваат преку ред на преносни соединенија и во таа прилика образуваат молекули на ATP, богата со хемиска енергија. Надополнувањето на изгубениот електрон хлорофил б се врши, спрема некои сфаќања, со електроните чии даватели се хидроксиди (OH⁻) кои продолжиле со светлоносно разградување, со фотолиза на вода (Хилова реакција).

Според ова, во нецикличното кружење на хлорофилот учествуваат електроните од вода кои се пренесуваат на молекулата на хлорофил и оттаму, преку апсорбираната сончева светлина, на NADP⁺ кој се редуцира во NADPH. Во ваков редуциран облик пиридинскиот нуклеотид се собира во хлоропластите во кои понатаму служи за редукција на јаглерод диоксид за време на фотосинтезата. Во еден целосен циклус од ваков тип фосфорилацијата се образува една молекула NADPH и една или две молекули ATP (Арсов и Митрев, 2017).

Синтетизираните соединенија за време на фотосинтетската фосфорилација, односно ATP и NADPH, служат во другата фаза на фотосинтезата (фиксација на јаглерод диоксид) за редукција на CO₂ и негово претворање во јаглехидратен облик.

Од атмосферата CO₂ продира со дифузија низ стомините отвори во потстомината празнина, оттаму низ клеточната мембрана во цитоплазма и потоа низ мембрана на хлоропластот во стромите на хлоропластот.

Во стромите на хлоропластот, CO₂ се врзува (фиксира) за одредени супстанции и, спрема начинот на неговото почетно врзување, постојат три метаболни типа на растенија. Во досега најмногу познатиот метаболички тип (C₃), врзувањето со CO₂ се врши со редукирниот пентозофосфатен циклус. Според тој циклус, CO₂ прво се врзува за рибулоза-1,5-дифосфат со помош на ферменти на карбоксидисмутаза (карбоксилаза рибулоза-1,5-дифосфат). Циклусот се состои од карбоксилативни, редукирни и регенеративни фази (Арсов и Митрев, 2017):

Во карбоксилната фаза рибулоза-5-фосфат преминува во рибулоза-1,5-дифосфат кој прима CO₂ и потоа дава две молекули на фосфоглицеринска киселина. Во редукирната фаза од две молекули на фосфоглицеринската киселина настануваат две молекули триозафосфат, со што, во овој облик, практично е извршено пренесувањето на CO₂ во шеќер.

Најголемиот дел од образованиот триозафосфат (3-фосфоглицерински алдехид и фосфодиоксиацетон) служи за повторна синтеза (регенеративна фаза) на рибулоза-1,5-дифосфат кој учествува во непрекинато врзување на CO₂. Другиот дел од синтетизираниот триозофосфат преминува низ мембраните на хлоропластот во цитоплазмата, каде што се преобразува во шеќер и други јаглехидрати (скроб).

Јаглеродните соединенија синтетизирани во процесот на фотосинтеза, претставуваат основно соединение за индиректна и директна синтеза на сите органски материји на живите организми.

8.5.2. Патолошки промени во фотосинтезата

8.5.2.1. Општи промени во фотосинтезата

Патолошките промени во фотосинтезата се редовна појава кај заразените зелени растенија. Тие се појавуваат поради директното заразување на фотосинтетските клетки, но се последица и на заразувањето на други клетки и ткива кои директно влијаат врз фотосинтетската активност.

Основна и редовна одлика во нарушувањето на фотосинтетската активност е изменената моќ на фотосинтезата на болните растенија. Динамиката на ваквите промени е различна и зависи од видот на паразитот, осетливоста на домаќинот и надворешните услови за време на патогенезата.

За биотрофните паразити (биотрофни габи, вируси и микоплазми) живата клетка е незаменлива средина за развој и опстанок. Биотрофите се зависни од функционирањето на метаболичкиот систем на клетката домаќин. Тие користат производи од фотосинтетската активност и енергетскиот систем на заразените клетки за сопствениот циклус на развој. Во вакви случаи, нарушувањата во фотосинтетските клетки се бавни и со динамика која овозможува и вегетативната и репродуктивната фаза на паразитот што побезбедно да се извршат.

Земајќи ја предвид зависноста од клетката домаќин, биотрофни (облигатни) паразити, во почетокот на заразата, обично не ја менуваат фотосинтетската активност на заразените растенија или пак, во некои случаи ја зголемуваат. Со развојот на заразата, фотосинтезата, бавно или брзо, прогресивно се намалува во споредба со фотосинтезата на здравите растенија.

Како што покажуваат некои податоци, динамиката на фотосинтетските промени кои ги предизвикуваат биотрофните паразити, зависи од начинот на воспоставување на паразитните односи со клетката и ткивата на домаќинот.

За биотрофните паразити (биотрофни габи, вируси и микоплазмивиот епифитен развој) карактеристично е одржување на фотосинтезата, чија активност потоа нагло се намалува.

За разлика од другите биотрофни организми, растителните вируси се апсолутно облигатни внатреклеточни паразити, чија синтеза се врши исклучително од хемиски состојки и енергијата на клетката домаќин. На тој начин, производите од фотосинтетската активност се неопходни за синтеза на вирусната честичка. Од ваквиот однос помеѓу вирусот и клетката домаќин произлегува и одредена динамика во фотосинтетските промени на вирусни растенија. Таа динамика се одликува со одржување на фотосинтезата во период на брзо размножување на вирусот, а потоа фотосинтетската активност се намалува до крајот на патогенезата (Арсов и Митрев, 2017).

Вирусот на мозаик на тутунот, според некои автори, предизвикува зголемување на фотосинтезата во заразените растенија на тутунот. Исто така се интересни за проучување хлоропластите издвоени од кинескиот зелка (*Brassica chinensis*), заразени со вирусот на жолт мозаик на стрнишната репка, според кои за време на активното размножување на вирусот се зголемува фотосинтезата, а со појавата на симптоми на систематична зараза таа се намалува (Шутић, 1980).

Намалувањето на фотосинтетската активност во развојот на вирусни е еден од најштетните последици кај болните растенија. Штетно влијание врз фотосинтезата е општата последица на инфекцијата (Шутић, 1980). За значајно намалување на

фотосинтезата во вирусните растенија постојат повеќе податоци, според кои степенот на фотосинтеза на болните растенија може да биде помал за 20 до 25 %, или може да се движи во граници од 20 до 50 %. Причинители за намалена фотосинтеза се штетните вируси кои причинуваат жолтило и венење на листовите (вирус на жолтило на шеќерната репка, вирус на свиткување на листот на компирот итн.) од вирусот на мозаик кои се многу повеќе распространети (вирус на мозаик на пченка, вирус на мозаик на луцерка итн.) (Арсов и Митрев, 2017).

8.5.2.2. Посебни промени во фотосинтезата

Фотосинтезата се состои од повеќе меѓусебно поврзани фази кои завршуваат со образување на одредени јаглехидратни соединенија. Секое нарушување во поединечниот процес се пренесува и на останатите процеси, што се одразува на вкупната енергија на фотосинтеза. Посебни промени кои се однесуваат на поединечни фази на фотосинтезата биле предмет на бројни истражувања и за нив овде посебно ќе се дискутира.

Промени во продирањето на сончевата светлост. За да се вклучи во процесот на фотосинтеза, светлосната енергија од атмосферата мора да биде усвоена од фотосинтетските клетки и ткива. На патот од светлината до фотосинтетскиот апарат може да се јават пречки кои сметаат во целосното продирање на светлосните зраци, а со тоа и на искористувањето на нивната енергија.

Во изменетите лиски кои ја намалуваат изложеноста на лисната површина од директниот ефект на светлината, може да се вброи и свиткување на листот и епинастија на листот. Свиткувањето на листот се одликува со тоа што лиските се свиткуваат од рабовите спрема главниот нерв и со тоа ја засенуваат својата внатрешна површина од непосредното дејство на сончевата светлина. Во причинители на свиткување на листот спаѓаат, на пример, вирусот на свиткување на листот од компир, вирусот на свиткување на листот на цреша, вирус на свиткување на листот на виновата лоза. Во промените од ваков тип може, секако, да се очекува намалување на фотосинтетската активност во текот на целата патогенеза. Вирусот на свиткување на листот кај компирот причинува, помалку или повеќе намалување на фотосинтезата во сите фази на развојот на болеста.

Промена во апсорпција на сончевата светлина. Апсорпцијата на сончевата светлина што влегува во фотосинтетската клетка ја вршат пигменти, пред сè зелените пигменти - хлорофил. Апсорпцијата на светлосната енергија на хлорофилот претставува непресушен извор за снабдување на фотосинтетскиот систем на оваа енергија. Мокта на апсорпција се заснова врз богатото присуство на хлорофилот (најзастапен помеѓу пигментите) и неговото постојано образување во клетката.

Основни нарушувања во апсорпција на сончевата светлина настануваат поради намалената количина на хлорофил во фотосинтетската клетка и ткива. Намалената количина на хлорофил може да настани поради недоволната синтеза на овие пигменти, губењето на хлорофилот поради некроза на фотосинтетските клетки и ткива, намалената фотосинтетска површина на неразвиените фотосинтетски ткива и органи и паѓањето на листовите како основни фотосинтетски органи.

- Спречувањето на синтезата на фотосинтетските пигменти се појавува првенствено во растенијата кои се делумно или целосно систематски заразени. Овие зарази зафаќаат поединечни растителни делови или и цели растенија; тие се шират паралелно со развојот на растителните делови и поради тоа можат да влијаат врз синтезата на хлорофил и врз останатите биосинтетски процеси. Најголем застој во образување на пигментите може, без сомнеж, да се очекува во млади листови кои се развиваат во присуство на зараза.

Посебно значење во спречувањето на синтезата на хлорофил може да имаат растителните микоплазми и вируси кои предизвикуваат целосна систематична зараза на растенијата. Оваа зараза се шири во растителните делови за време на нивниот развој и на најштетен начин може да се одрази на сите биосинтетски процеси. Инхибициското дејство на вирусот во развојот на пигменти веројатно преовладува во младите листови кои се развиваат кога се размножуваат и вирусните честички. Разградувањето на хлорофилот е забележан и кај вирозните растенија, иако вирусите не располагаат со сопствени ферменти за ова разградување. Во вештачки инокулиран лист на репка, вирусот на некротично жолтило на нервите (ризоманија) на шеќерната репка ја намалува количината на вкупниот хлорофил и хлорофилот а и б за 48,8 % (Арсов и Митрев, 2017).

Вирусот на жолт мозаик на шеќерната репка ја намалува количината на хлорофил, во заразениот лист на кинеската зелка. Во поттикнувањето на разградувањето на молекулите на хлорофилот во овој и слични случаи, активна улога може да имаат хормонските супстанции. Како што спомнува овој автор, во листовите со хлоротични локални виrozни дамки кај некои растенија се јавува зголемена количина на етилен. Зголемената количина на овој хормон е утврдена во хлоротичните локални дамки во листот заразен со вирус на мозаик на гравот, како и во котиледоните на краставицата заразена со вирусот на мозаик на краставица (Арсов и Митрев, 2017).

Апсорпциската улога на хлорофилот зависи од градежните клетки (структурниот интегритет) и функционалноста на хлоропластот, како носач на овие пигменти. Општо правило е дека само целите и неповредени хлоропласти можат да бидат биохемиски активни.

Меѓутоа, хлоропластите спаѓаат во клеточни органели кои се најподложни на патолошки промени. Развојот на хлоропластот многу можат да го спречуваат како неживи така и живи фактори. Нарушувањата може да настанат и во градежниот и хемискиот состав на хлоропластот, кои штетно се одразуваат на нивната функција. Досегашните истражувања покажале дека нарушувања можат да се појават во сите делови на хлоропластот, како што се листовите, ластарите, мембраните, итн. Последица на вакви промени е нарушување или и целосно спречување на единствениот метаболизам, кој може да се постигне само во нормална просторна организација од оваа органела.

Бројни студии го потврдиле општото правило дека количината на хлорофил во заразените растенија се менува при штетното дејство на паразитот, како на хлорофилот така и на хлоропластот. Динамиката на опаѓање на хлорофилот зависи од повеќе фактори, како што се степенот на развиеност на паразитот, осетливоста на растението домаќин и др.

Намалената количина на хлорофил покажува намалена фотосинтетска активност. Бројни примери покажале дека намалената количина на хлорофил и фотосинтезата не се линеарно поврзани. Ваквата поврзаност е блиска во заразите кои ги причинуваат некротрофни за разлика од биотрофни паразити. Allen (1942) во испитувањето на пепелница од пченица утврдил дека во раните фази фотосинтезата била висока, иако количината на хлорофил се намалувала, додека во доцните фази на зараза фотосинтезата опаѓала побрзо од количината на хлорофил (Wood, 1967). Ваквите и слични примери покажуваат дека фотосинтезата не зависи само од количината на хлорофил туку и од многу други промени во клетката (Арсов и Митрев, 2017).

Силно дејство на намалување на количината на хлорофилот имаат паразитите кои причинуваат брзо угинување на растителните клетки и ткива. Во овие случаи количината на хлорофил приближно се намалува во размерот со големината на некротирани растителни делови. Последица од ваквите промени е намалување на фотосинтезата која го следи износот во губење на хлорофилот.

Вакви нарушувања на количината на хлорофил и на фотосинтезата причинуваат брзо изумирање со губење на хлорофилот се појавува во преосетливите

(хиперсензибилни) реакции на некои растенија заразени со облигатни паразити (пр., вирус на мозаик на тутунот итн.).

- Во заразените листови кои заостануваат во растот, количината на хлорофил и вкупниот фотосинтетски апарат е помал отколку во нормален лист. Значителен пад на можната количина на хлорофил се јавува, на пример, кај лиските од домотот и тутунот заразени со вирусот на мозаик на краставицата. Со паѓањето на листовите, што ги предизвикуваат многу паразити, настанува целосен губиток на фотосинтетскиот орган и фотосинтезата престанува.

Промени во фотосинтетската фосфорилација. Енергијата од сончевата светлина која ја апсорбираат молекулите на хлорофилот во процесот на фосфорилација се претвора, како што е веќе кажано, во хемиска енергија врзана во молекули АТФ и NADPH. Активноста на фотосинтетската фосфорилација зависи, меѓу другото, од количината на хлорофил, бидејќи електроните од молекулите на хлорофил кружат во хлоропластите и ја пренесуваат енергијата од сончевата светлост. Моќта на фотосинтетската фосфорилација, меѓутоа, не е само пропорционална со количината на хлорофилот, уште зависи и од сложените односи кои се воспоставуваат помеѓу паразитот и неговиот домаќин.

Интензитетот на фотосинтетската фосфорилација сигурно има посилен промени кај растенијата заразени со некротрофни, отколку со биотрофни паразити. Некротрофните предизвикуваат брза некроза на клетката и ткивата, па и фосфорилацијата брзо се намалува и престанува кога хлорофилот се губи и исчезнува.

Досегашните проучувања за фосфорилацијата се однесуваат на растенијата заразени со облигатни паразити, бидејќи тие не предизвикуваат брзо угинување на клетката на домаќинот, па затоа може да се користат за набљудување за подолг период.

Како што покажуваат некои податоци, во растителните клетки заразени со вируси се зголемува фотосинтетската фосфорилација во првите фази на зараза. Енергијата настаната со овие зголемувања се користи за размножување на вирусната честичка, бидејќи тие немаат сопствен енергетски систем. Ваквата фотосинтетска активност, меѓутоа, се намалува по периодот на интензивна репродукција на вируси.

Било утврдено дека во изолирани хлоропласти од листот на кинеската зелка заразена со вирусот на жолт мозаик на шеќерната репка ја зголемуваат цикличната и нецикличната фосфорилација и Хилова реакција (фотолиза на вода) во периодот на силно размножување на вирусите. Активноста на фотосинтетската фосфорилација и Хилова реакција во хлоропластите од листот на тутун заразен со вирусот на мозаик на тутунот се менувала со траењето на заразата. Вирусната зараза не влијаела значајно врз оваа активност до околу седмиот ден по инокулацијата. Меѓутоа, од седмиот до деветтиот ден и фотофосфорилација и Хилова реакција биле намалени за околу 40 %. Овие податоци се добиени со тоа што активноста на нивните ферменти била намалена побрзо отколку количината на хлорофил. Spikes & Stout (1955) утврдиле дека Хиловата реакција е намалена во хлоропластите на шеќерната репка заразена со вирусот на жолтило (Шутић, 1980).

Активноста на фотосинтетската фосфорилација, како што покажале истражувањата, се менува според количината на хлорофил и односот помеѓу паразитот и неговиот домаќин. Намалената фотофосфорилација, која редовно се појавува во доцните фази на болеста, не обезбедува доволно енергија за нормална биосинтетска активност, па оваа енергија се добива со трошење на резервните хранливи супстанции.

Промена во примањето на јаглерод диоксид. Јаглерод диоксидот (CO_2) во атмосферскиот воздух е единствен извор на јаглерод кој, во процесот на фотосинтеза, се врзува и вградува во првиот облик на шеќер (триозафосфат), од каде што понатаму се користи за синтеза на сите јаглеродни соединенија во составот на целокупниот растителен и животински свет. Во надворешната атмосфера CO_2 поминува низ стомините отвори бидејќи кутикуларното покоришно ткиво претставува значајна препрека за навлегување на овој гас. Со дифузија, CO_2 од атмосферскиот воздух доаѓа во стромата на хлоропластот во фотосинтетската клетка.

Во заразените или повредените растителни делови може да се појави одредено попречување во должина на целиот пат на доток на CO_2 . Првите нарушувања може да настанат уште во „надворешната“ дифузија во која овој гас се шири од атмосферата низ стомините отвори до сидот на фотосинтетската клетка. Првото попречување настанува во примањето на CO_2 од надворешната средина низ отворите на стомата. Во друга група спаѓаат нарушувањата кога поминува низ клеточната мембрана (плазмалема), цитоплазмата, мембраната на хлоропластот, до стромата на хлоропластот. Попречување во надворешната дифузија на CO_2 предизвикуваат епифитни и ендифитни паразити кои со својот развој се мешаат или го спречуваат функционирањето на стомините отвори (Арсов и Митрев, 2017).

Во епифитни микроорганизми што можат штетно да делуваат на усвојувањето CO_2 спаѓаат причинителот на чадливост и пепелница. Епифитните микроорганизми ја прекриваат површината на покоришното ткиво и спаѓаат во најизразити штетни микроорганизми кои ја намалуваат способноста на стомините отвори за примање на CO_2 .

Вирусите исто така штетно влијаат врз дифузија на CO_2 , иако за тоа нема доволно податоци. На листовите на шеќерна репка заразени со вирусот на жолтило, бројот на стоми бил за 16 % помал за разлика од здрав лист. Овој вирус предизвикува нарушувања во затворањето на стомите, што го ограничува примањето на CO_2 и е еден од најзначајните ограничувачки фактори во фотосинтетската активност на заразените растенија. Вирусот на бессемен домат значајно го намалил размерот на овој гас, иако е без влијание врз транспирацијата и интензитетот на дифузија. За намалена фиксација на CO_2 има повеќе податоци како влијателен фактор на фотосинтезата на листот со симптоми на мозаик и жолтило; намалување во примањето на овој гас обично се забележува неколку дена по заразата.

- За разлика од надворешната, внатрешната дифузија на CO_2 се врши во затворен систем од клеточни сидови - низ плазмалема, цитоплазма, мембраните на хлоропластот до стромата на хлоропластот во која се врши редуција на овој гас. Нормалната дифузија е овозможена единствено ако целиот овој затворен систем е неоштетен.

Растителните паразити со своите ферменти, токсини и механичко дејство можат да ја разложуваат и раствораат, делумно или целосно, градбата на клеточните органели и мембранскиот систем.

Со разложувањето на мембраната на хлоропластот, органелите ја губат својата единственост (интегритет); нивните метаболити и разни состојки преминуваат слободно во цитоплазмата и со тоа се губи нормалната просторна поделеност во активностите помеѓу хлоропластот и цитоплазмата. Во ваквата дезорганизирана клеточна градба настануваат нарушувања во контролираната внатрешна дифузија на CO_2 што доведува до намалено или целосно престанување на фотосинтезата.

- На крајот треба да се додаде дека со секое губење на активната лисна површина во заразените растенија, покрај некрозата на заразените делови, намалената површина и опаѓањето на листовите, се намалува и вкупната количина на CO_2 што растенијата може во целост да ја примат и искористат.

Промени во фотоасимилација на јаглерод диоксид. Фотоасимилацијата се однесува на претворањето на CO_2 во првиот облик на шеќер (триозафосфат), како основно соединение за метаболичките процеси во хлоропластот и клетката. Ова усвојување на CO_2 се врши по пат на реакција на Калвинов циклус со фиксирање на CO_2 (Калвинов циклус на фотосинтеза), односно по пат на специфичен пентозафосфатен редуктивен циклус.

Нарушувања во редуктивниот пентозофосфатен циклус може да настанат поради недоволно количина на енергетски (АТФ) и редуцирани (NADPH) соединенија. За претворањето на една молекула на CO_2 во триозофосфат се трошат 2 молекули NADPH + H^+ + 2 молекули АТФ. Недоволна количина на овие соединенија, што беше спомнато во промените во фотосинтетската фосфорилација, доведува до соодветен пад на фотоасимилациската активност.

- Нарушувања во фотоасимилација може да настанат поради недоволно снабдување на фотосинтетскиот апарат со јаглерод диоксид. Тоа пречење се однесува на надворешната и внатрешната дифузија на CO_2 до фотосинтетската клетка и нивните хлоропласти. Недоволната количина на CO_2 може значајно да ја намали и запре фотоасимилационата активност.

- Прекинувањето на функционалноста на Калвиновиот циклус може да предизвика и нарушувања во активноста на поединечни ферменти на овој циклус. Неколку такви ферменти се активираат во светлост, како што се дехидрогеназа глицералдехид-3-фосфат, киназа рибулоза-5-фосфат, фосфотаза фруктоза-1,6-дифосфат и карбоксилаза рибулоза-1,5-дифосфат.

Некои растителни паразити, по специфичниот развој, ја намалуваат количината на сончева светлина што треба да навлези во фотосинтетскиот апарат. Недоволната количина на светлина неповолно се одразува на активностите на овие ферменти, како и на сите останати фотосинтетски процеси.

Повеќе истражувања се посветени на нарушувањата на карбоксилаза рибулоза-1,5-дифосфат за време на активната синтеза на вирусната честичка во растителните клетки вклучувајќи ги ферментите од редуцираниот пентозофосфатен циклус на асимилација на CO_2 , па поради извесните разложувања и престанување на синтезата на протеини се намалува количината на овој фермент. Според тврдењата на Matthews (1981), активноста на оваа карбоксилаза може да биди намалена за 20 %. Престанувањето на синтезата на овој фермент ја објаснува вирусната инфекција која доведува до прекинување на синтезата на протеини во хлоропластите. Може да се очекува дека прекилот на синтеза на протеини во хлоропластите делува исто така штетно и на активноста на останатите ферменти во редуцираниот пентозафосфатен циклус (Арсов и Митрев, 2017).

Во своите испитувања Crosbie & Matthews (1974) утврдиле дека вирусот на мозаик на пострни репи е намален, во заразениот лист на кинеската зелка, со основни состојки на хлоропластот: хлорофил а, карбоксилаза-1,5-дифосфат и рибозоми 48 S. Како што објаснуваат авторите, овие промени настанале претежно по завршената репродукција на вирусните честички.

Намалената активност на карбоксилаза рибулоза-1,5-дифосфат (познати и како карбоксидисмутаза) е утврдена и во некои микозни заболувања. Во пченицата заразена со 'рѓа е забележано намалување на активноста на овој фермент 12 дена по заразата. Нема податоци за штетното дејство на механизмот од ова заболување со активноста на карбоксилаза рибулоза дифосфат, но е можно и овде, покрај останатите фактори, да доаѓа до изразување на нарушувањето во синтезата на протеини во постарите фази на зараза.

Промени на хлоропластот и фотосинтезата. Хлоропластите се органели чија основна функција е фотосинтеза. Сложената градба на хлоропластот, како што е кажано, составена е од двојна мембрана и строма (матрикс) во внатрешниот дел во кој се наоѓа високо развиен ламеларен (мембрански) систем. Хлоропластите содржат хлорофил и каротеноиди кои се од основно значење во процесот на фотосинтеза. Од фитопатолошко гледиште, значајни се исто така податоците дека хлоропластите (како и другите пластиди) се репродуцираат со сопствено делење и дека не може повторно да се образуваат.

Хлоропластите спаѓаат во осетливи клеточни органели кои се подложени на промени во градбата, организацијата и функцијата. Овие промени можат да ги предизвикаат абиотските и биотските фактори. Дејството на абиотските фактори (светлина, хемиски супстанции, вода и др.) врз променливоста на хлоропластот е опишано во многу ботанички истражувања.

Сите растителни паразити (габи, бактерии, вируси, микоплазми) причинуваат многубројни и разновидни промени во хлоропластот. За време на паразитирањето во заразениите клетки може да се разградува составниот дел на хлоропластот (мембрана, ламела, стромата на оваа органела). Во дезорганизирана внатрешна градба неконтролирано се ослободуваат состојки (ферменти и др.) на хлоропластот во останатата клеточна содржина. Уништените или оштетени хлоропласти се неактивни, а бидејќи не се создаваат повторно, настанува намалена општа моќ на фотосинтеза во фотосинтетските клетки и ткива.

Хлорофилот како основен пигмент кој учествува во градбата на хлоропластот, исто така е многу осетлив спрема дејството на паразитот. Општо правило е дека во сите фотосинтетски заразени клетки се менува количината на хлорофил и другите пигменти, што неповолно влијае врз градежната целина на оваа органела.

Некротичните процеси кои ги зафаќаат фотосинтетските клетки и ткива ја намалуваат вкупната количина на хлоропластот и хлорофил во фотосинтетските органи. Некрозите на повеќето делови причинуваат изумирање на листот, а со тоа и престанување на фотосинтезата.

На крајот, општиот заклучок е дека сите растителни паразити делуваат штетно на фотосинтетската активност на растенијата. Патолошки промени може да настанат во сите процеси на фотосинтеза и фотосинтетската органели во заразениите растенија. Најштетната последица од овие промени е тоа што го намалува произведувањето на фотосинтетските метаболити. Во недостатокот на овие производи, заразениите растенија ги трошат резервните хранливи супстанции од дишењето, што неповолно се одразува на вкупните производи на растенијата.



ПОГЛАВЈЕ 9. СПРЕЧУВАЊЕ НА ШИРЕЊЕ НА ВИРУСИТЕ (АГРОТЕХНИЧКИ МЕРКИ, БИОЛОШКО СУЗБИВАЊЕ, ХЕМИСКО СУЗБИВАЊЕ И КАРАНТИНСКИ МЕРКИ)

- 9.1. Агротехнички мерки**
- 9.2. Биолошко сузбивање**
- 9.3. Хемиско сузбивање (хемотерапија)**
- 9.4. Карантински мерки**

ПОГЛАВЈЕ 9. СПРЕЧУВАЊЕ НА ШИРЕЊЕ НА ВИРУСИТЕ (АГРОТЕХНИЧКИ МЕРКИ, БИОЛОШКО СУЗБИВАЊЕ, ХЕМИСКО СУЗБИВАЊЕ И КАРАНТИНСКИ МЕРКИ)

9.1. Агротехнички мерки

Агротехничките мерки во заштитата на растенијата имаат за цел да го намалат негативното влијание на надворешните фактори врз развојот на растенијата, намалувајќи ја на тој начин нивната осетливост кон болестите или избегнувајќи ги заразите од патогените од една страна, а од друга страна да влијаат негативно врз развојот на патогените.

Основни агротехнички мерки кои се употребуваат се следниве:

- **Здрав семенски и саден материјал** (голем број вируси можат да се пренесат со семенскиот и садниот материјал, затоа оваа мерка е број 1 при контрола на вирусните инфекции). Ова е многу важна, тешка и комплицирана мерка затоа што зависи од посебните организации кои произведуваат семенски и вегетативен материјал за размножување. За целиот период на нивното создавање, потребно е да се контролира здравствениот статус.
- **Отстранување на изворите на вирусните зарази** (агротехничка мерка при чија примена треба да се следат неколку важни моменти при производството: плодоред, принцип на просторна изолација на одгледуваната површина и култура со соседните одгледувани култури, уништување на плевелите кои можат да бидат примарни домаќини на векторите на вирусите, контрола на нематодите и уништување на самоникнатите култивирани растенија).
- **Времето на сеидба** (пораната сеидба на некои култури (пр., репката), овозможува избегнување на животниот стадиум на лисните вошки како можни преносители на вирусната инфекција, како и доцната есенска сеидба на житата, може да придонесе да се избегнат векторите поради нивната неактивност, но во исто време ќе се избегне и епидемиолошкиот вирусен статус – инфекцијата кога сеидбата ќе се одвива покасно. Сепак, времето на сеидба во денешни услови на климатски промени треба континуирано и оптимизирано да се следи и практично применува за да се заштитат површините и од надворешните / временските прилики).
- **Големина на парцелите и број на растенија** (првите заразени растенија секогаш се јавуваат на краевите на парцелите и најчесто заразите настануваат преку векторите кои најчесто застануваат на крајните растенија. Поголемите парцели побавно се заразуваат од помалите парцели, кај кои растенијата ќе бидат заразени со првиот лет на инсектите и затоа такви мали парцели не се сигурни при производството. Ширењето на вирусите, посебно оние кои се пренесуваат со лисни вошки, особено во погустите парцели можноста за инфекција е многу поголема).
- **Намалување на бројот на векторите** (во природни услови намалување на бројот на векторите тешко може да се оствари. Покрај тоа што прв и значаен момент за намалување на векторите е примена на третмани со инсектициди, но пред сè се препорачува употреба на сорти помалку осетливи на инсектите, и употреба на контактни (при сузбивање на инсектите кои ги пренесуваат вирусите на непersistентен начин) и системични инсектициди. Како една агротехничка мерка која може да се примени за намалување на инсектите вектори, е мерка за

примена на здружени посеви со култури кои имаат нееднаква осетливост кон инсектите вектори. Третмани кои се применуваат пак за намалување на бројот на нематодите како вектори на вирусната инфекција, се примена на дезинфекциони мерки, како и апликација на нематоциди).

- **Исхрана на растенијата** (значајна мерка на која треба да се посвети големо внимание затоа што она што го фаворизира развојот на растенијата е доста привлечно и за векторите. Така, азотните ѓубрива го засилуваат развојот на растенијата, но во исто време се многу привлечни и за векторите на вирусната инфекција. Искуството на терен покажало дека осетливоста на растенијата повеќе се зголемува со користење на органски, за разлика од минерални ѓубрива. Азотните ѓубрива ја зголемуваат осетливоста на растенијата, а фосфорните ѓубрива се препорачуваат да се аплицираат за време од најјака инфекција сè со цел да се намали штетата од вирусната зараза);
- **Одгледување на отпорни сорти** (генетиката и селекцијата имаат многу важна улога во одгледувањето и заштитата на растенијата. Селекцијата на гените и добивањето на отпорни сорти преку процесот на внесување на гени на отпорност кај одредени растенија е долготраен и неизвесен процес во светот на науката и заштитата на растенијата. Гените на отпорност често се откриваат, но се покажало дека многу тешко оди нивното вклучување во нови растителни организми. Недостаток во користењето на слабо осетливите растенија во производството е тоа што тие служат како извор на зараза за други осетливи растенија, а во случај на заразување со некои вирус, кај овие растенија се јавуваат многу јаки симптоми за разлика од поединечната зараза. Најдобро решение во сузбивање на растителните вируси е примена на отпорни, толерантни и помалку осетливи растенија, за кои науката постојано оди напред и се создаваат нови сорти кои можат да се стават веднаш во промет (Шутић, 1980; 1982; Русевски и Кузмановска, 2013).

9.2. Биолошко сузбивање

Со овие мерки се спречува умножувањето на вирусите, а со тоа се намалуваат штетните последици од вирусните инфекции. Постојат две групи на биолошка заштита: вкрстена заштита и вегетативна заштита или отпорност.

- **Вкрстена заштита** (се базира на претходна зараза со еден сој на вирус кој покасно спречува развој на симптоми од вирулентниот сој од истиот вид вирус. Оваа вкрстена заштита најуспешно во пракса била применета во заштита на домотот од вирулентните соеви на вирусот на мозаикот на тутунот кај домотот. Оваа заштита била применувана само при производство на домот во заштитени услови. Досега нема многу податоци за примена на оваа заштита во праксата, затоа што растенијата во такви услови можат да се заразат и со други вируси, кои во здружена зараза стануваат уште поштетни).
- **Вегетативна заштита или отпорност** (оваа заштита се базира на користење на отпорни подлоги за зголемување на општата отпорност на калемениите растенија кон вирусната зараза) (Шутић, 1980).

9.3. Хемиско сузбивање (хемотерапија)

Поради облигатниот паразитски начин на живот на вирусите, хемиската заштита нема значителна директна примена. Хемиски соединенија кои би имале вироцидно дејство, треба да бидат токсични за вирусите, а да не се токсични за самата растителна клетка во чија внатрешност се реплицираат вирусите. Меѓутоа, до денес сите мерки за заштита од вирусна инфекција се насочуваат кон превентивна заштита.

Превентивна хемиска заштита – спречува инокулација на растенијата. За примена на овие мерки често се користи полномасно млеко, минерални и растителни масла и др. Млекото и маслото кога ќе се нанесат на лисните делови, спречуваат т.е. оневозможуваат векторите со стилетите да навлезат во растителното ткиво. Овој период во комбинација со инсектицидни дејства овозможува контрола особено на неперзистентните вируси.

Антирепликациски соединенија – ова се соединенија аналогни на пиримидините и пурините. Првите податоци се забележани далечната 1951 г. од страна на Комонер и Меркер. Нивните анализи утврдиле дека со замена на базата урацил со аналогот **2-тиоурацил** кај растенијата тутун била спречена синтезата на вирусот на мозаикот на тутунот (TMV). Било утврдено дека тиоурацилот ја стопира репликацијата на вирусите, на тој начин што го менува метаболизмот на урацилот, кој е неопходно важен за формирањето на вирусните честички. Меѓутоа, во 1964 година од страна на Шутић и сор. било потврдено дека целосно стопирачко дејство врз процесот на вирусна репликација на TMV, имал аналогот **5-флуоурацил**. Исто така, познат и проучуван дериват на пурините бил и **8-азагуанин**, кој исто така го намалувал реплицирањето на повеќе вируси како: вирус на мозаик на тутунот, вирус на мозаик на краставицата, вирус на мозаик на луцерката, вирус на прстенеста дамкавост кај коскестото овошје и др.

Антибиотици – хемиски соединенија кои имаат редуktivно дејство врз репликацијата на вирусите, како и врз забавување во појавата на симптомите од системичната зараза на растенијата. Како пример за некои ефикасни антибиотици се: **цитовирин** (изолиран од актиномицетите *Streptomyces* spp.), циклохексамид (изолиран од актиномицетите *Streptomyces griseus*) и др.

Хормони за раст - докажано било дека и хормонските материи делуваат негативно на умножување на вирусите. Така на пр., хормонското соединение **кинетин**, кое делува на синтеза на протеините и го одложува стареењето на клетките, делува на намалување на бројот и големината на локализираните дамки кај петуниите инокулирано со вирусот на бронзена некроза на домотот.

Мерките за дезинфекција најчеста примена наоѓаат во процесот за дезинфекција на семето. Ова е исто така една многу важна мерка за спречување или сузбивање на вирусната инфекција. Пр., најчесто во пракса се користи дезинфекциона мерка за семето од домот и пиперка, за отстранување или спречување на навлегување на вирусните честички од фам. *Tobamovirus*, со примена на раствор од концентрирана (или техничка) хлороводородна киселина (HCl), како и натриум хидроксид (NaOH). Дезинфекцијата на семето од домот се изведува така што еден дел од неговата пулпа се потопува во $\frac{1}{4}$ хлороводородна киселина, која потоа енергично се меша и се остава да стои од 15 до 30 минути. Следен чекор е убаво промивање на семето со протечна вода за да се отстранат сите траги од киселината, кои имаат фитотоксично дејство. Додека пак, за семето од пиперката, успешна дезинфекција настанува со потопување во 2% раствор од натриум хидроксид за време од 1 час и после задолжително добро промивање. Оваа дезинфекција мора да се напомене дека е површинска, што значи дека успешно ги отстранува и сузбива патогените на површината на семето, за разлика

од внатрешната зараза на семето каде методот на дезинфекција е недоволно ефикасен.

Како метод, дезинфекцијата е многу значајна, посебно за техничкиот материјал, што всушност претставува и задолжителна мерка, особено при контакт со заразените растенија. **Дезинфекцијата на техничкиот материјал** опфаќа: дезинфекција на ножички, ножеви, прибор за обработка, рамки, стакла, носачи, саксии и др., меѓутоа кога се прави дезинфекција на техничкиот материјал задолжително треба да се направи и дезинфекција на рацете, особено при контакт со заразените растенија.

Исто така, се спроведува и дезинфекција на почвата со цел елиминирање на нематодите или инфективниот растителен материјал.

Како најчести дезинфециенси кои се користат, зависно од видот на материјалот се: хемиски дезинфециенси како: етил алкохол, детергенти, различни фунгициди и бактерициди, како и физички средства - термотерапија со водена пареа, сува стерилизација и др.

Во текот на работата, работниците не смеат да пушат затоа што на тој начин директно се пренесува вирусот на мозаикот на тутунот кој се наоѓа во пресуваниот тутун за пушење. После пушењето, треба да се изврши задолжителна дезинфекција на рацете (Шутић, 1980).

9.4. Карантински мерки

Овие мерки имаат големо значење за спречување на ширењето на вирусите, кои ги применува човекот како еден од важните фактори – пренесувачи на вирусните зарази. Секоја држава има посебни карантински листи во кои важно место имаат и вирусните заболувања, и со кои листи секоја држава се заштитува од несакан увоз на контаминиран растителен материјал со вирусни инфекции кои не се присутни во државата или пак се присутни но државата сака да спречи понатамошен влез и ширење на вирусните инфекции.

При увоз секој семенски или саден материјал треба да поседува фитосанитарен сертификат со кој докажува дека има отсуство на вируси (*virus free*). Доколку се увезува растителен материјал (растенија или растителни делови) кој мора да се внесе но здравствениот статус не е проверен, во тој случај мора неколку години да се одгледува тој материјал во т.н. карантински полиња, од каде ќе се пуштат во промет откако се провери нивниот здравствен статус.

При ширење на вирусните инфекции, особено важна улога имаат вегетативните растителни делови за размножување. По правило, тие се редовно заразени со вируси кои можат понатаму многу лесно да се пренесат со помош на инсектни вектори или на друг начин.

Кога станува збор за семенскиот материјал, особено се внимава на вируси кои најчесто се пренесуваат со семето, како на пр., вирус на линиски мозаик кај јачменот, кој нема природни вектори на надземните делови на растенијата, но преку семето се пренесува на различни далечини не само во Европа, туку и на други континенти.

Една опасна карантинска вирусоза е шарката на сливата (*Plum pox potyvirus*) затоа што се пренесува со растителниот материјал, а во природни услови се шири многу брзо со помош на неколку видови на лисни вошки како вектори на овој вирус. Поради ова, во многу држави со пропис најстроги се забранува увоз на материјал кој може да биде заразен со овој карантински вирус.

Исто така, кај виновата лоза сериозни прописи има и за контрола на лозов саден материјал заразен со вирус на заразна дегенерација кај виновата лоза (*Grapevine fanleaf nepovirus*).

&

Доколку на одредена територија се забележи ново жариште со вирусна инфекција, потребно ќе биде преземање на еридикативни мерки, односно уништување на изворот на зараза. Особено еридикативните мерки се успешни доколку се применуваат во земји и на површини каде одреден вирус не постоел до тој момент, и тогаш по пат на механичко отстранување на заболените растенија и нивно уништување, ќе се прекине т.е. спречи ширењето на вирусот за кој се преземаат еридикативни мерки.

&

Контролата на вирусна инфекција е комплицирана од брзата еволуција, варијабилноста на вирусите и особеностите на нивната патогенеза. Вирусна инфекција кај растенијата е сложен меѓузависен процес. Создавањето на трансгенски сорти предизвика многу надеж во борбата против вирусните патогени. Недостатоците на генетски инженерските пристапи го вклучуваат фактот дека добиениот отпор е често многу специфичен и краткотраен, а во многу земји има забрани за употреба на трансгенски сорти.

Современите методи на превенција, дијагностика и обновување на садниот материјал се во првите редови во борбата против вирусната инфекција. Главните техники што се користат за заздравување на растенијата заразени со вируси вклучуваат апикална меристемска метода, која е комбинирана со термотерапија и хемотерапија. Овие методи претставуваат единствен биотехнолошки комплексен метод за обновување на растенијата од вируси „in vitro“ култура. Широко го користи овој метод за добивање невирусен саден материјал за различни култури.

Недостатоците на методот за подобрување на здравјето заснована на ткивна култура ја вклучуваат можноста за самоклонални варијации кои произлегуваат од долгорочното одгледување на растенијата под „in vitro“ услови. Се прошириле можностите за зголемување на отпорноста на растенијата преку стимулирање на нивниот имунолошки систем, што произлегло од длабинското проучување на молекуларните и генетските основи на отпорноста на растенијата кон вирусите и истражувањето на механизмите на индукција на заштитни реакции во растителниот организам. Постојните методи за контрола на фитовирусот се двосмислени и бараат дополнителни истражувања. Понатамошното проучување на генетските, биохемиските и физиолошките карактеристики на вирусната патогенеза и развојот на стратегија за зголемување на отпорноста на растенијата на вируси, ќе овозможи да се достигне ново ниво на контрола на инфекција со фитовируси (Anikina et al., 2023).

ПОГЛАВЈЕ 10. ОТПОРНОСТ НА РАСТЕНИЈАТА КОН ВИРУСИТЕ
10.1. Механизмот на одбрана кај растенијата



10. ОТПОРНОСТ НА РАСТЕНИЈАТА КОН ВИРУСИТЕ

Една од важните карактеристики, посебно при проучување на вирусите е способноста на човекот и животните да создаваат специфични одбранбени тела, наречени антители, со кои се борат против антигените т.е. вирусите. Создадените антители се белковински соединенија кои реагираат со антигените на принципот „ключ и брава“. Оваа реакција завршува со создаден комплекс антиген – антители, каде што антигенот (вирусот) е спречен од страна на антителата за понатамошно ширење, инфекција и развој на патогенеза.

За разлика од нив, растителниот организам, поради разлика во градбата и активноста, нема способност за создавање на антители. Сепак, можеме да зборуваме за отпорност кај растенијата кон вирусни инфекции, и покрај неможноста за создавање на серолошка реакција.

Кај растенијата, отпорноста кон вирусната инфекција е дефинирана преку градбата и физиолошката активност. Благодарение на различните заштитни реакции, постојат растенија со различен степен на отпорност или пак осетливост кон вирусните инфекции.

10.1. Механизмот на одбрана кај растенијата

Механизмот на одбрана кај растенијата се остварува на принципот:

домаќин : вирус : надворешна средина. Имајќи предвид дека вирусите се облигатни, интерклеточни паразитни форми, патогенезата ќе се оствари само доколку клетката домаќин ги препознае и позитивно одговори на генетските пораки испратени од соодветниот вирус.

Инфективноста ќе биде остварена само доколку има **КОМПАТИБИЛЕН ОДНОС:**
ОСЕТЛИВ ДОМАЌИН : ВИРУЛЕНТЕН ВИРУС.

Да се потсетиме и да го дефинираме поимот **отпорност:** „способност на едно растение да го спречи или ограничи нападот од потенцијалниот патоген“. Степенот на отпорност на растенијата кон болестите се означува со т.н. **индекс на отпорност или осетливост** и врз основа на овој индекс во природата сите сорти се делат на: многу отпорна сорта; отпорна сорта; слабо осетлива сорта и многу осетлива сорта.

Отпорноста на растенијата кон вирусите може да се манифестира на различни начини и е поделена во четири групи:

- (1) Природна отпорност;
- (2) Стекната отпорност;
- (3) Вегетативна отпорност;
- (4) Вкрстена отпорност.

(1) **Природна отпорност** – оваа отпорност се должи на карактеристиките на растителниот геном и не е директно зависна од вирусната инфекција. Според степенот на манифестирање може да биде: **потполна и делумна.**

- **Потполна отпорност** – отпорни растенија кои не можат да бидат заразени од некој вирус или од неговиот сој, за разлика пак од други растенија од истиот вид, кои се осетливи на истиот вирус или на неговиот сој. Оваа потполна отпорност, колку и да е посакувана во производството, сепак од практична гледна точка

може со сигурност да се потврди дека е многу ретка и тешко се постигнува, доколку вирусот веќе постои и се јавува кај домаќини од сродни растителни видови. Потполна отпорност на растенијата кон еден вид вирус не може да се одржи трајно, затоа што во природата се појавуваат соеви чиј круг на домаќини исто така се менува. Механизмот на потполна отпорност е тешко да се објасни, затоа што се работи за една сложена животна средина – клетка. Едно од можните појаснувања за функционирањето на механизмот на потполна отпорност е недостатокот на соодветни рецептор места во клетката кои се потребни за стабилизација и мобилизација на вирусните честички или пак клетката како електролит делува непогодно за јонските врски на вирусите со нивните рецепторни места. Во отпорните клетки на растението домаќин, вирусните честички не може да се реплицираат, во овој случај клетката домаќин најверојатно не ја прима и препознава пораката на вирусниот геном за синтеза на вирусната полимераза.

- **Делумна отпорност** – отпорност кај растенија кои се веќе заразени со соодветен вирус, но за разлика од осетливите единки од истиот вид, патогенезата е со далеку послаби последици. Во овој тип на отпорност спаѓаат: **(а) толеранција;** **(б) хистолошка отпорност** и **(в) старосна (онтогенетска) отпорност.**

(а) Толеранција – појава која растенијата во кои навлегол и се реплицира вирусот, не покажуваат симптоми или пак симптомите се благи и нејасни. Во ваков случај, вирусот е присутен во растението домаќин, но нема штетни последици и затоа припаѓа во групата на делумна природна отпорност. Толерантноста како појава во литературата е опишана кај повеќе од 30 одгледувани растенија. Растенијата кои покажуваат ваков тип на отпорност се дефинираат како **толерантни растенија**, а вирусите кои ги предизвикуваат ваквите реакции се дефинираат како **латентни вируси.**

(б) Хистолошка отпорност – се карактеризира за растенија во кои вирусот е навлезен и веќе населува одделни ткива. Во овој случај вирусите се поделени во три групи: вируси на паренхимското ткиво; вируси на спроводното ткиво и вируси на меристемското ткиво.

Паренхимското ткиво се состои од најмалку диференцирани клетки, и е најраспространето ткиво. Ова е најосетливо и најчесто напаѓано ткиво, кое вообичаено на вирусните инфекции реагира со симптоми како: мозаици, шаренила и дамкавост по листовите. Вирусите кои се реплицираат во паренхимското ткиво, не се размножуваат или многу слабо се размножуваат во спроводното ткиво.

Додека, вирусите кои ги инфицираат спроводните ткива, најчесто се патогени форми врзани за фломот (флоемски ограничени патогени), и тоа пред сè на живите клетки, како што се ситестите цевки и паренхимските клетки во состав на спроводното ткиво. Симптомите предизвикани од овие вирусни форми најчесто се манифестираат како жолтици, свиткување на листовите и овенување на листовите и цели растенија. Овој вид вируси ретко или воопшто не се размножува во паренхимот во состав на лисното ткиво, поради што овој дел од растението е отпорен или релативно отпорен на вирусите на спроводниот систем.

Вируси на меристемското ткиво – меристемското ткиво е најслабо населено. Вирусните инфекции кои се појавуваат се со системичен карактер, и врз основа на тоа меристемот знае да биде вирусно незаразен или делумно заразен. Со полен и преку заразен семенски материјал се пренесуваат најмал процент од сите вирусни причинители кои постројат во природата.

(в) Старосна (онтогенетска) отпорност – тип на отпорност врзана за физиолошката старост на растенијата. Се појавува во текот на развојот на растенијата, постои независно од инфекцијата, а најчесто се манифестира после остварување на заразата. Кај младите растенија, инфекциите се поопасни и симптомите се посилено изразени. Доколку инфекцијата се оствари покасно, во тој случај еспресијата на симптомите ќе биде поблага.

(2) Стекната отпорност (индуцирана отпорност) – се јавува после инфекција на растителните клетки домаќини, како резултат на одбранбена реакција насочена кон присуството и активноста на вирусот. Овој вид на отпорност може да се јави кај локалните и системски инфекции.

- **Локална (стекната) отпорност** – се појавува кај преосетливите (хиперсензитивни) растенија, за кој е карактеристично што брзо изумираат инфицираните клетки заедно со вирусните честички, што може да се забележи како локална некроза на зелените растителни делови. Ваквите локализираны зарази кај растенијата, може да се манифестираат локално или општо. Локалната отпорност се јавува во близина на дамките, а општата се однесува на целиот растителен организам. Хиперсензитивните реакции се највисоко ниво на отпорност кај растенијата, кои се манифестираат во близина на местата на инфекција. Овој вид на отпорност се намалува или се ублажува со подоцнежна зараза на растенијата.
- **Системската стекната отпорност** – карактеристична за системските инфекции. Овој тип на отпорност се манифестира во три фази: (а) акутна; (б) хронична и (в) заздравувачка.

(а) Акутна фаза – започнува веднаш по инфекцијата и е позната како „шок“ фаза. Во оваа фаза симптомите се најизразени и вирусот има најштетни последици. Акутната фаза е поизразена кај младите растенија, што резултира со нарушување во растот и морфологијата на растението домаќин, со што во зависност од осетливоста на растението, во оваа фаза може да настане и угинување на растението. Кај растенијата кои ќе ја преживеат акутната фаза, обично настанува промена на фазата во хронична, и во оваа фаза настапува ублажување на инфективното дејство на вирусот. После заостанувањето во порастот, настанува растење во форма на образување на листови и други растителни органи.

(б) Хронична фаза – се однесува на растенија кои ја преживеале акутната фаза која може да биде изразена во нееднакви степени. Во оваа фаза, забележано било ублажување на симптомите, опаѓање на концентрацијата на вирусот, а кај одредени случаи биле забележани и тешкотии во лабораториското докажување на вирусот. Преку научните следења, било забележано (кај домотот и пиперката), дека причинителот на мозаикот (вирусот на мозаикот на тутунот) преминал од акутна во хронична фаза. Била забележана појава на опаѓање на листовите кај пиперката во акутна фаза на растението, за да потоа во хроничната фаза, посебно во услови на добро одгледување и нега на растенијата, повторно растението стимулира создавање на листови, пораст на растението, дури и извесен род (принос).

(в) Заздравувачка фаза – фаза после хроничната фаза на растението, кога симптомите целосно се повлекуваат и растенијата не можат да се разликуваат од здравите. Кај овие растенија, се намалува концентрацијата на вирусот, нема еспресија на симптоми, вирусот е присутен системски, но не се манифестираат симптоми и растението продолжува да се развива во иста линија со здравите растенија.

Природата на стекнатата отпорност од акутна до фаза на заздравување, во светот на науката и во праксата е феномен кој сè уште не е детално опишан. Ова закрепнување на растенијата често во пракса се нарекува и биолошко закрепнување или „recovery“, за кое со сигурност се знае дека вирусот е присутен, но во многу ограничена и мала концентрација која во моментот не прави штети, а не се знае кога повторно (при какви надворешни услови) ќе манифестира симптоми.

(3) Вегетативна отпорност – овој тип на отпорност уште се нарекува и соматска отпорност и најчесто се јавува во процесот на калемење, процес кој често се користи во лозарството и овоштарството. Во најголем број случаи вирусните инфекции при калемењето почесто се пренесувале од подлогата.

Преку користење на подлоги отпорни на различни инфекции, биле решени големи проблеми предизвикани од фитопатогени габи на коренот и приземниот дел од стеблото на растенијата.

Генерално, овој тип на отпорност се јавува во случај на взаемно вегетативно влијание на растителните делови споени во процесот на калемење.

(4) Вкрстена отпорност – оваа отпорност е предизвикана од повеќе различни соеви кои припаѓаат на ист вид. Истражувањата покажале дека едно растение може да биде на почеток заразено само од еден сој на вирусот, а подоцна да биде заразено уште со неколку соја кои не манифестираат дополнителни симптоми. Овој вид на синергизам постои исклучиво кај вирусните инфекции.

Вегетативната отпорност е идентификувана кај соеви кои предизвикуваат хиперсензибилност (локални инфекции), но и кај оние соеви кои предизвикуваат системски зарази. Оваа појава до ден денес не е доволно и логично потврдена, и покрај фактот дека далечната 1929 г. Мек Кинеј за прв пат утврдил дека тутунот кој бил веќе заразен со TMV, дополнително не реагира и не покажува симптоми од инокулацијата со жолтиот сој од овој вирус (Шутич, 1980). Веројатно, вирулентноста на соевите на одреден вирус доминира, што значи дека оној сој кој е повирulentен ќе има и поизразена симптоматологија и аларм за вклучување на отпорноста кај растението домаќин.

Испитувањата на сите видови на отпорност на растенијата продолжува и ден денес, и задолжително се вклучени сите алки на сложениот систем: вирус – растение домаќин – надворешна средина.

Отпорност кон создадена инфекција – овој вид на отпорност се однесува на создавање на особина која ја спречува инфекцијата од страна на векторот. Најчесто се постигнува со вкрстување со диви сродници, па на тој начин се добива задебелена кутикула, поголема површина на листовите или пак други особини кои би имале заштитна улога. На овој начин би биле спречени лисните вошки да се исхрануваат на површината на листовите (Bagi et al., 2016).

Отпорност како резултат на спречување на развој на заболување кај растението домаќин – овој тип на отпорност се должи на спречување на репликација и ширење на вирусот во растителното ткиво и создавање на наследна отпорност кон сите познати соеви од еден вирус. Најчесто се базира на присуство на еден ген, на пр., генот кај домотот Tm - го заштитува домотот од вирусот на мозаикот кај домотот (*Tomato mosaic virus*, ToMV). Истражувањата покажале дека вирусната инфекција во растителното ткиво, покренува одбранбени механизми и цела низа на биохемиски реакции, во кои главна улога има салицилната киселина. Како резултат на овие процеси настануваат соединенија како што се етилен, јасминска киселина, протооксид на азотот, протеин системин и др. кои имаат одбранбена реакција кај растенијата домаќини. Овој вид на отпорност уште се нарекува SAR (Systemic acquired resistance) – системска отпорност (Bagi et al., 2016).

Отпорност преку создавање на хиперсензибилна реакција – во случај на хиперсензибилна отпорност, после создадената инфекција се развива брза некроза т.е. изумирање на соседните клетки, околу местото на навлегување на вирусот во растителната клетка. Овој тип на реакција предизвикува локализација, односно спречување на понатамошно ширење на вирусот во растителното ткиво. Најчесто се базира на еден ген на отпорност. Покрај локалната некроза, може да се развие системска некроза, кога заразеното растение изумира и не претставува извор на зараза за наредната инфекција (Bagi et al., 2016).

Толерантност – во случај на недостаток на гени кои покажуваат потполна отпорност кон вирусните инфекции, се оди на начин на создавање на толерантност кон вирусите. Толерантните растенија може да се заразат со вирусна инфекција, но реагираат со благи симптоми и со мало намалување на приносот. Во исто време, вирусот се умножува во растението домаќин, и на тој начин растението претставува извор на нова инфекција. Пр., благодарение на рецесивните гени r_{m1} и r_{m2} , сортата на тутунот амбалема е толерантна кон вирусот на мозаикот на тутунот (*Tobacco mosaic virus*) (Bagi et al., 2016).



КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА

КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА

- Ammar, M. S. , Hegazy, A. E. , & Bedeir, S. H. (2009). Using of taro flour as partial substitute of wheat flour in bread making. *Journal of Dairy and Food Science*, 4(2), 94–99.
- Ansorge, W.J. (2009). Next-generation DNA sequencing techniques. *New Biotechnol.* 2009, 25, 195–203.
- Anikina, I., Kamarova, A., Issayeva, K., Issakhanova, S., Mustafayeva, N., Insebayeva, M., Mukhamedzhanova, A., Khan, S.M., Ahmad, Z., Lho L.H., Han, H., Raposo, A. (2023). Plant protection from virus: a review of different approaches. *Front Plant Sci.* 2023; 14: 1163270.
- Ahlquist, P., French, R., Janda, M., Loesch-Fries, L.S. (1984). Multicomponent RNA plant virus infection derived from cloned viral cDNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1984, 81, 7066–7070.
- Barbara, D.J., Morton, A., Spence, N.J., Miller, A. (1995). Rapid differentiation of closely related isolates of two plant viruses by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis. *Journal of Virological Methods* 55: 121-131.
- Blanc, S., Drucker, M., Uzest, M. (2014). Localizing viruses in their insect vectors *Annu. Rev. Phytopathol.*, 52 (2014), pp. 403-425.
- Clark, M.F., Adams, A.N. (1977). Characteristics of the Microplate Method of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Plant Viruses. *Journal of General Virology*, 34, 475-483.
<https://doi.org/10.1099/0022-1317-34-3-475>
- Davies, J.W. (1984). *Molecular Plant Virology*. CRC Press. (CRC Press is an imprint of Taylor & Francis Group, an Informa business)
- Dawson, W.O., Beck, D.L., Knorr, D.A., Grantham, G.L. (1986). cDNA cloning of the complete genome of tobacco mosaic virus and production of infectious transcripts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1986, 83, 1832–1836.
- Engvall, E., Peter Perlmann, P., (1971). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry*, Volume 8, Issue 9, September 1971, Pages 871-874.
- Gibbs, A. & Harrison, B. (1976). *Plant Virology, The Principles*. Halsted Press, a Division of John Wiley & Sons, Inc. New York.
- Hodge, S. & Powell, G., (2008). Do plant viruses facilitate their aphid vectors by inducing symptoms that alter behaviour and performance? *Environmental entomology*, 37(6): 1573-1581.
- Hogenhout, S.A., Ammar, E.D., Whitfield, A.E., Redinbaugh, M.G. (2008). Insect vector interactions with persistently transmitted viruses. *Annual Review of Phytopathology*. 46: 327-359.

- Hull, R. (2014). *Plant Virology*. Fifth edition. *Elsevier*. ISBN: 978-0-12-384871-0
- Kado, C. I. & Agrawal, H. O. (1972). *Principles and Techniques in Plant Virology*. Edited by Clarence I. Kado and Hari O. Agrawal. Published by New York, Van Nostrand Reinhold Co, 1972.
- Kassanis, B. and Govier, D.A. (1971). The role of the helper virus in aphid transmission of potato aucuba mosaic virus and potato virus C. *Journal of general virology*, 13(2):221- 228.
- Khan, J. & Dijkstra J. (1984). *Plant Viruses As Molecular Pathogens*. *Haworth Press*.
- Klarik P., Ricchi, M. (2017): A Basic Guide to Real Time PCR in Microbial Diagnostics: Definitions, Parameters, and Everything. *Frontiers in Microbiology*, Vol.8, Article 108.
- Kim W.S., Stobbs K.W., Lehman S.M., James D., Svircev A.M. (2008): Direct real-time PCR detection of Plum pox virus in field surveys in Ontario. *Can. J. Plant. Pathol.* 30> 308-317 (2008).
- Koch, R. (1891). Ueber bacteriologische Forschungen, vol. 1. Verhandlung des X Internationalen Kongresses, Berlin, p. 35.
- Kulukovska C., Mitrev S., Arsov E. (2021a). Use of Real Time methods for different investigation at environmental protection. In: *2nd Scientific conference for Critical Environmental Issues Of The Western Balkan Countries*.
- Kulukovska C., Mitrev S., Arsov E. (2021b). Real time PCR method for PPV diagnostic on plums and apricot in the Republic of North Macedonia. *Journal of Agriculture and Plant Sciences*, 19 (2). pp. 37-45. ISSN 2545-4447.
- Mukhopadhyay, S. (2010). *Plant virus, vector epidemiology and management*. Published by *Science Publishers*, P.O. Box 699, Enfield, NH 03748, USA.
- Murphy, F.A., Fauquet, M.C., Bishop, Said H.L.D., Ghabrial, S.A., Jarvis, W.A., Giovanni P. Martelli, G.P., Mike A. Mayo A.M., & Summers D.M. (1995). Introduction to the Universal System of Virus Taxonomy. *Archives of Virology* Supplement 10 book series (ARCHIVES SUPPL, volume 10).
- Mayo M. A. & Horzinek M. C. (1998). A revised version of the international code of virus classification and nomenclature *Archives of Virology*, volume 143, pages 1645–1654.
- Matic S., Al Rwahnih M., Myrta A. (2005). Diversity of *Plum Pox* isolates from Bosnia and Herzegovina. *Plant Pathol.* 55: 11-17.
- Mitrev S., Karov I., Rusevski R., Arsov E. (2012). *Presence of Plum Pox virus in the Republic of Macedonia*. Plant Protection Society of the Republic of Macedonia, XXIII (24/25). pp. 35-40. ISSN 1857-7253.
- Meshi, T., Ishikawa, M., Motoyoshi, F., Semba, K., Okada, Y. (1986). In vitro transcription of infectious RNAs from full-length cDNAs of tobacco mosaic virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1986, 83, 5043–5047.

- Moreno, A., Hébrard, E., Uzest, M., Blanc, S., Fereres, A. (2005). A single amino acid position in the helper component of cauliflower mosaic virus can change the spectrum of transmitting vector species. *Journal of virology*, 79 (21): 13587-13593.
- Nemeth M. (1994). History and importance of *Plum Pox virus* in stone fruit production. OEPP/EPPO Bulletin, n. 24: 525-536.
- Neish, A.C., Hibbert, H., (1943). Studies on plant tumors: III. Nitrogen metabolism of normal and tumor tissues of the beet root. *Arch. Biochem.* 3, 159-166.
- Ioanna S.F., Polyxeni G., Pappia B., Konstantinos E., Efthimioua, Nikolaos I. K., Varvara I. M. (2018). Development of one-tube real-time RT-qPCR for the universal detection and quantification of *Plum pox virus* (PPV). *J Virol Methods*, 2019, doi: 10.1016/j.jviromet.2018.10.006. Epub 2018 Oct 12, 2019 Jan; 263:10-13.
- James D., Varga A., Thompson D., Hayes S. (2003). Detection of a new and unusual isolate of *Plum pox virus* in plum (*Prunus domestica*). *Plant Dis.* 87: 1119–1124.
- James C. K. Ng, Keith I. Perry (2004). Transmission of plant viruses by aphid vectors, 2004, *molecular plant pathology* (2004) 5(5), 505–511. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2004.00240.x>
- Jevremović D. (2012). Prevalence of PPV - D and PPV - Rec species of hinge virus in plum in Serbia and dynamics of their spread in plum plantations, *Doctoral dissertation*, Belgrade.
- Ng, J. C., & Perry, K. L. (2004). Transmission of plant viruses by aphid vectors. *Molecular plant pathology*, 5(5), 505-511.
- Parvez M.K. (2020). Geometric architecture of viruses. *World J Virol* 2020; 9(2): 5-18.
- Pringle C.R. (1999). Virus taxonomy--1999. The universal system of virus taxonomy, updated to include the new proposals ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses during 1998. 1999; 144 (2): 421-9. doi: 10.1007/s007050050515.
- Rasool, F., Singh, P., Anwar, A., Mughal N., Kumar, S., Bashir, S. (2022). Classification and nomenclature of viruses: A review. *The Pharma Innovation Journal* 2022; SP-11(7): 213-218.
- Rivers, T.M. (1937). Viruses and Koch's postulates. *J. Bacterio.* 33, 1-12.
- Roberts C.A., Dietzgen R.G., Heelan L.A., Maclean D.J. (2000). Real-time RT-PCR fluorescent detection of tomato spotted wilt virus. *J. Virol. Methods*, 88: 1–8.
- Simmonds, P., Adams, M.J., Benkő, M., Breitbart, M., Brister, J.R., Carstens, E.B., Davison, A.J., Delwart, E., Gorbalenya, A.E., Harrach, B., et al. (2017). Consensus statement: Virus taxonomy in the age of metagenomics. *Nat. Rev. Microbiol.* 2017, 15, 161–168.

Subramanya, K. (2013). Seed-born Plant virus Diseases. ISBN 978-81-322-0812-9 ISBN 978-81-322-0813-6 (eBook) DOI 10.1007/978-81-322-0813-6. Springer. New Delhi Heidelberg New York Dordrecht London. 342

Tosic, M. (1971). Virus diseases of wheat in Serbia. II. Some changes in wheat plants infected with *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) and *Brome mosaic virus* (BMV). *Phytopath. Z.* 71, 327-340.

Wynn, W.K., Staples C.R. (1981). Appressorium formation over stomates by the bean rust fungus: response to a surface contact stimulus. *Phytopathology* 66, 136-146.

Whitfield A.E. a,n , Bryce W. Falk W.B., b , Rotenberg D., a (2015). Insect vector-mediated transmission of plant viruses, *Virology*, 2015, pp 278-289.

Van der Wilk, F., Korsman, M., Zoon, F. (1994). Detection of tobacco rattle virus in nematodes by reverse transcription and polymerase chain reaction. *European Journal of Plant Pathology* 100: 109-122.

Van Regenmortel, M. H. V., Mayo, M. A., Fauquet C. M. & Maniloff J. (2000). Virus nomenclature: consensus versus chaos. *Archives of Virology* volume 145, pages 2227–2232.

Valverde, R. A., Sabanadzovic, S., & Hammond, J. (2012). Viruses that enhance the aesthetics of some ornamental plants: beauty or beast?. *Plant disease*, 96(5), 600-611.

Zerbini, F. M., & Kitajima, E. W. (2022). From Contagium vivum fluidum to Riboviria: A Tobacco Mosaic Virus-Centric History of Virus Taxonomy. *Biomolecules*, 12(10), 1363.

Арсов, Е., Митрев С. (2017). Анатомски и физиолошки промени кај болните растенија - скрипта. Универзитет „Гоце Делчев“ Штип ISBN 978-608-244-426-0.

Bagi, F., Stevan, J., Budakov, D. (2016). Viroze biljaka. Univerzitet u Novom Sadu. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad. 1-408.

Пејчиновски, Ф., Митрев С. (2007а). Земјоделска фитопатологија (општ дел). Универзитет „Гоце Делчев“ Штип. 320 стр.

Пејчиновски, Ф., Митрев С. (2007б). Земјоделска фитопатологија (специјален дел). Универзитет „Гоце Делчев“ Штип 498 стр.

Русевски, Р., Кузмановска, Б. (2013). Растителни вируси општ дел. Интерна скрипта. Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ Скопје, Факултет за земјоделски науки и храна. 124 стр.

Шутић, Д. (1980). Вирозе билјака. Полјопривредни факултет у Београду.

Шутић, Д. (1982). Вирозе билјака. Полјопривредни факултет у Београду.

Шутић, Д. (1986). Анатомија и физиологија болесних билјака. Полјопривредни факултет у Београду.

КОРИСНИ WEB СТРАНИЦИ

Description of Plant Viruses <https://www.dpvweb.net/>

EPPO Global Database <https://gd.eppo.int/>

EPPO Global Database <https://gd.eppo.int/photos/virus>

Geometric architecture of viruse <https://www.wjgnet.com/2220-3249/full/v9/i2/5.htm>

International Committee on Nomenclature of Viruses (ICNV) <https://ictv.global/>

National Center for Biotechnology Information <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Plant Viruses: An oft-forgotten threat to food security
<https://sitn.hms.harvard.edu/flash/2017/plants-viruses-oft-forgotten-threat-food-security/>

Plant viruses <https://www.rhs.org.uk/disease/plant-viruses>

Plant viruses
[https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Introductory_and_General_Biology/Book%3A_General_Biology_\(Boundless\)/21%3A_Viruses/21.02%3A_Virus_Infections_and_Hosts/21.2D%3A_Plant_Viruses](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Introductory_and_General_Biology/Book%3A_General_Biology_(Boundless)/21%3A_Viruses/21.02%3A_Virus_Infections_and_Hosts/21.2D%3A_Plant_Viruses)

Plant viruses <https://www.britannica.com/science/retrovirus>

Research Unit Molecular and Synthetic Plant Virology
<https://www.bio.uni-stuttgart.de/en/molbio/>



ISBN 978-608-277-001-7